

Virtsanäytelöydökset koirilla akuutissa munuaisvauriossa

Johanna Koskela

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto
Pieneläinten sisätaudit
Helsingin Yliopisto 2020

Tiedekunta - Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare – Author Johanna Koskela			
Työn nimi - Arbetets titel – Title Virtsanäytelöydökset koirilla akuutissa munuaisvauriossa			
Oppiaine - Läroämne – Subject Pieneläinten sisätaudit			
Työn laji - Arbetets art – Level Lisensiaatin tutkielma		Aika - Datum – Month and year 5/2020	Sivumäärä - Sidoantal – Number of pages 52
<p> Tiivistelmä - Referat – Abstract Akuutti munuaisvaurio johtaa äkilliseen munuaisten toimintakyvyn heikkenemiseen, jolloin voidaan havaita häiriöitä mm. verenpaineen, happoemästäsapainon, nestetasapainon ja elektrolyytitasapainon säätelyssä. Kuolleisuus akuutissa munuaisvauriossa koirilla on n. 50% ja selvinneilläkin munuaisten toiminta on usein pysyvästi heikentynyt. Perinteisesti diagnoosi perustuu kreatiniinin seerumipitoisuuden nousuun ja muutoksiin virtsantuotannon määrässä. Munuaisten vajaatoiminnassa seerumin kreatiinipitoisuus alkaa kuitenkin tyypillisesti nousta vasta, kun munuaisten toimintakapasiteetista on menetetty jo 75% ja aina kreatiinipitoisuus ei munuaisvaurion yhteydessä nouse. Tarvitaankin uusia, herkempiä merkkiaineita akuutin munuaisvaurion tunnistamiseksi jo varhaisemmassa vaiheessa. Virtsan sedimentistä voidaan löytää munuaisvauriosta kertovia merkkejä, kuten lieriöitä ja epiteelisoluja, mutta silti virtsan sedimenttitutkimuksia akuutin munuaisvaurion alkuvaiheessa on tehty humanipuolellakin vähän, koirilla ei tiettävästi lainkaan. </p> <p> Yliopistollisessa eläinsairaalassa toteutettiin vuonna 2018 tutkimus, jossa tutkittiin virtsanäytteitä koirilla, joilla oli riski kehittyä akuutti munuaisvaurio tulehduskipulääke- tai kynnmyrkkymyrkytyksen seurauksena. Hypoteesina oli, että virtsan sedimenttiin ilmaantuisi seurannan aikana munuaisvauriosta kertovia merkkejä. </p> <p> Tutkimuksen aineisto koostuu 12 kynnpuremakoirasta ja kolmesta tulehduskipulääkemyrkytyskoirasta sekä vertailuryhmästä, jossa oli mukana 11 perustervettä koiraa. Koirilta otettiin virtsanäyte sairaalaantulopäivänä, sitä seuraavana päivänä sekä 4 ja 12 viikkoa ensimmäisestä näytteestä. Virtsanäytteistä tutkittiin virtsan sedimenttitutkimus, liuskatesti, ominaispaino ja virtsan proteiini/kreatiniini -suhde, ja erityisenä mielenkiinnon kohteena olivat mahdollisesti ilmaantuvat sedimenttilöydökset. Sedimenttitutkimuksessa käytettiin eläinten virtsan sedimenttitutkimuksiin kehitettyä IDEXX SediVue Dx ® -laitetta, joka ottaa virtsan sedimentistä korkearesoluutioisia kuvia ja tulkitsee ne automaattisesti. </p> <p> Yhtäkään koirista ei lopetettu eikä yksikään koirista menehtynyt tutkimusaikana. Tutkimuksessa virtsan proteiini/kreatiniini -suhde oli myrkytyspotilailla ensimmäisissä virtsanäytteissä selvästi korkeampi kuin terveillä verrokeilla, mutta laski normaaliksi seurannan aikana. Myös virtsan ominaispaino oli myrkytyspotilailla matalampi ja pH korkeampi ensimmäisinä päivinä kuin terveillä verrokeilla. Kahdella myrkytyspotilaalla löydettiin normaalia enemmän epiteelisoluja. Usealla koiralla esiintyi virtsassa myös bilirubiinia ja punasoluja. Yksittäisissä näytteissä oli lisäksi bakteereita ja valkosoluja. Virtsanäytteissä ei havaittu lieriöitä. </p> <p> Koirista yhdelläkään ei voitu virtsanäytteen perusteella osoittaa syntyneen akuuttia munuaisvauriota. Tutkimuksen jälkeen vuonna 2019 julkaistuissa tutkimuksissa SediVue Dx ® -laitteen herkkyys tunnistaa epiteelisoluja ja lieriöitä on todettu heikoksi. On mahdollista, että lieriöitä tai epiteelisoluja on jäänyt tässä tutkimuksessa siten löytämättä. On myös mahdollista, ettei kynn myrky ole niin munuaistoksista, kuin on epäilty, ja etteivät kynnpurema- ja tulehduskipulääkemyrkytyksestä kärsineet koirat ehkä palvelleet tutkimuksen tarkoitusta löytää virtsan sedimentistä munuaisvaurioon viittaavia löydöksiä. Tarvitaankin vielä jatkotutkimuksia virtsan sedimenttitutkimuksen hyödyistä akuutin munuaisvaurion diagnostiikan tukena. </p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Akuutti munuaisvaurio, virtsa, sedimentti, ominaispaino, liuskatesti, proteiini/kreatiniini -suhde, IDEXX SediVue, koira			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) – Instruktör och ledare – Director and Supervisor(s) Johtaja prof. Thomas Spillmann, ohjaaja Emilia Gordin			

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	1
2 KIRJALLISUUSKATSAUS	5
2.1 Akuutti munuaisvaurio	5
2.1.1 Akuutin munuaisvaurion diagnosoiminen	5
2.1.2 Ennuste akuutissa munuaisvauriossa	7
2.2 Krooninen munuaisten vajaatoiminta	8
2.3 Virtsanäytteen otto ja tutkiminen	9
2.4 Virtsan ominaispaino	10
2.5 Virtsan proteiini/kreatiniini -suhde	11
2.6 Virtsan liuskatesti	12
2.6.1 PH.....	13
2.6.2 Proteiinit	13
2.6.3 Glukoosi	14
2.6.4 Veri.....	15
2.6.5 Bilirubiini.....	16
2.6.6 Ketoaineet	16
2.7 Virtsan sedimentti	16
2.7.1 Solut.....	17
2.7.1.1 Välimuotoinen epiteelisolu	17
2.7.1.2 Levyepiteelisolu.....	18
2.7.1.3 Munuaistubuluksen lieriöepiteelisolu	18
2.7.1.4 Valkosolu	19
2.7.1.5 Punasolu	19
2.7.2 Bakteerit	20
2.7.2.1 <i>Leptospira</i> ssp.....	21
2.7.3 <i>Leishmania infantum</i> (chagasi)	21
2.7.4 Kiteet	22
2.7.4.1 Struviittikide	23
2.7.4.2 Kalsiumoksalaattikide	23

2.7.4.3 Kystiinikide	24
2.7.4.4 Ksantiinikide	25
2.7.5 Lieriöt	25
2.7.5.1 Hyaliinilieriö	26
2.7.5.2 Jyväslieriö	26
2.7.5.3 Vahalieriö	27
2.7.5.4 Solulieriö	28
2.7.5.5 Hemoglobiinilieriö	29
2.7.5.6 Amorfinen lieriö	29
3 AINEISTO JA MENETELMÄT	30
4 TULOKSET	32
4.1 Liuskatestitulokset	32
4.2 Sedimenttitutkimuksen tulokset	34
4.3 Ominaispainotulokset.....	36
4.4 Proteiini/kreatiniini -suhteen tulokset	36
5 POHDINTA	38
5.1 Virtsan liuskatesti ja sedimenttitutkimus	38
5.2 Virtsan ominaispaino	41
5.3 Virtsan proteiini/kreatiniini -suhde	41
5.4 Mahdollisten muiden tekijöiden vaikutus virtsanäytetuloksiin	43
6 JOHTOPÄÄTÖKSET	45
7 LÄHDELUETTELO	46

1 JOHDANTO

Munuaisilla on useita tärkeitä tehtäviä elimistössä. Suodattamalla suuria määriä plasmaa ja valikoimalla siitä virtsaan eritettävät yhdisteet ne ylläpitävät elimistön neste-, elektrolyytti- ja happoemästasapainoa ja poistavat virtsaan elimistössä muodostuneita typpipitoisia kuona-aineita. Ne myös tuottavat erytropoietiinia ja säätelevät elimistön kalsiumtasapainoa ja systeemistä verenpainetta (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017).

Munuaiset ovat herkkiä iskeemisille ja toksisille vaurioille niiden erityisen anatomian ja fysiologian takia. Munuaisissa on runsas verenkierto ja niiden läpi virtaa noin 20% sydämen minuuttitilavuudesta, joten ne altistuvat veren mukana kulkeville toksiineille muita kudoksia enemmän. Varsinkin munuaisten kuorikerros on altis vaurioille, sillä jopa 90% munuaisten saamasta verimäärästä kiertää kuorikerroksessa. Kuorikerroksessa sijaitsevat munuaiskeräset, proksimaaliset munuaistubulukset ja Henlen lingon nousevat osat, joiden aineenvaihdunta on vilkasta. Sen vuoksi ne myös ovat herkkiä vaurioitumaan hapen ja ravintoaineiden puutteen vuoksi. Lisäksi munuaistubulusten epiteelisolujen kautta tapahtuva aineiden takaisinimeytyminen altistaa ne suurille toksiinimäärille. Jotkin toksiinit, kuten gentamysiini, voivat myös kertyä munuaistubulusten soluihin. Munuaisissa tapahtuu myös toksiinien biotransformaatiota, mikä voi johtaa alkuperäistä myrkyllisempien toksiinien syntyyn (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017).

Akuutti munuaisvaurio on melko yleinen sairaalahoitoon tuoduilla koirilla ja siihen liittyy korkea kuolleisuus (Vaden ym. 1997, Thoen ja Kerl 2011, Legatti ym. 2018). Munuaisvaurion varhainen havaitseminen ja hoidon aloittaminen jo alkuvaiheessa parantaa ennustetta (Elliot ym. 2007). Akuutista munuaisvauriosta toipuneillakin kuitenkin munuaisten toimintakyky on usein pysyvästi heikentynyt ja seurauksena on usein krooninen munuaisten vajaatoiminta (Vaden ym. 1997)). Diagnoosi perustuu muutoksiin virtsantuotannon määrässä sekä kohonneisiin seerumin munuaisarvojen nousuun. Seerumin tunnetut munuaisarvot kreatiniini, urea ja SDMA (symmetrinen dimetyyliarginiini) nousevat hitaasti, ja kun niiden nousu huomataan, on munuaisvaurio jo ilmeinen. (Keir ja Kellum 2015, Ettinger ym. 2017, Legatti ym. 2018). Virtsantuotannon määrään puolestaan vaikuttavat monet eri tekijät munuaisvaurion lisäksi (Ettinger ym. 2017). Näiden syiden takia tarvitaankin uusia, herkempiä testejä perinteisten testien rinnalle akuutin munuaisvaurion

tunnistamiseksi. Kirjallisuudesta löytyy jonkin verran viitteitä, jotka käsittelevät virtsanäytelöydöksiä akuutissa munuaisvauriossa sekä ihmisillä että koirilla, mutta tutkimukset käsittelevät pääasiassa virtsassa esiintyviä entsyymimerkkiaineita. Toisaalta virtsan liuskatestiin, ominaispainoon ja proteiini/kreatiniinisuhteeseen liittyy useita virhelähteitä ja niiden tulosten nousuun vaikuttavat muutkin tekijät kuin munuaisvaurio.

Virtsassa tiedetään voivan esiintyä lieriöitä jo ennen, kuin urean ja kreatiniinin taso veressä nousee (Ettinger ym. 2017). Kuitenkin erityisesti virtsan sedimenttilöydöksiä on akuutissa munuaisvauriossa tutkittu jopa humaanipuolella vähän ja koirilla ei tiettävästi lainkaan. Humaanipuolen tutkimuksessa Perazella ym. (2008) osoittivat, että munuaistubulussolujen ja lieriöiden esiintyminen virtsanäytteessä viittaa voimakkaasti akuuttiin munuaisvaurioon. Schinstockin ym. (2013) tutkimuksessa lieriöiden ja munuaistubulussolujen esiintymisen virtsassa todettiin olevan NGAL-entsyymimerkkiainetta huomattavasti herkempi mittari akuutin munuaisvaurion diagnostiikassa. Hrovatin ym. (2013) Etelä-Afrikassa tekemässä tutkimuksessa virtsan sedimentissä havaittiin usealla käärmepuremakoiralla lieriöitä (hyaliini-, jyväs- ja solulieriöitä), munuaistubulussoluja ja epiteelisoluja. Chawlan ym. (2008) tutkimuksessa solujen ja lieriöiden lukumäärän lisääntyminen virtsan sedimentissä heikensi potilaan ennustetta selvitä akuutista munuaisvauriosta. Nämä tutkimustulokset antavat osviittaa siitä, että myös koirilla voitaisiin virtsan sedimentissä nähdä akuutista munuaisvauriosta kertovia löydöksiä, kuten lieriöitä ja epiteelisoluja, jo vaurion alkuvaiheessa ja että niiden määrä voisi korreloida koiran ennusteeseen.

Toteutimme Helsingin Yliopistollisessa eläinsairaalassa vuonna 2018 tutkimuksen, jossa etsittiin virtsan sedimentistä akuutista munuaisvauriosta kertovia merkkejä. Tutkimukseen valittiin mukaan kyynelemyrkytuksesta tai tulehduskipulääkemyrkytyksestä kärsiviä koiria, koska kyseisiin tilanteisiin törmätään usein kliinisessä työssä ja myrkytyksen seurauksena voi kehittyä akuutti munuaisvaurio.

Tulehduskipulääkkeiden vaikutus perustuu syklo-oksigenaasientsyymien (COX) toiminnan estoon. COX-entsyymit välittävät prostaglandiinien muodostumista, joista osa toimii elimistössä tulehdusvälittäjäaineina. Prostaglandiineilla on kuitenkin myös tärkeitä toiminnallisia tehtäviä

elimistössä ja yksi niistä on munuaisten verenkierron säätely. COX-entsyymeistä COX-1-entsyymien on yhdistetty välittävän juuri edellä mainittujen toiminnallisesti tärkeiden prostaglandiinien muodostumista, kun taas COX-2-entsyymit välittävät inflammatoristen, kudosturvotusta ja verisuonten läpäisevyyttä lisäävien prostaglandiinien muodostumista. Tästä voidaan päätellä, että erityisesti COX-2-entsyymien toiminnan estämisestä saataisiin toivottu, tulehdusta hillitsevä vaikutus, kun taas COX-1-entsyymien toiminnan estäminen johtaisi herkemmin haittavaikutusten syntyyn (Mensing ja Volmer 2009, Khan ja McLean 2012, Lomas ja Grauer 2015). Kuitenkin munuaisissa myös COX-2-entsyymin indusoimilla prostaglandiineilla on toivottava, verisuonten laajenemista ja siten munuaisten verenkiertoa parantava vaikutus. Tulehduskipulääkkeiden munuusiin kohdistuva haittavaikutus johtuu pääasiassa edellä mainittujen prostaglandiinien synteesin estämisestä, mikä voi johtaa munuaiskudoksen nekroosiin ja interstitiellin nefriittiin (Khan ja McLean 2012). Koirilla, joilla on jo valmiiksi heikentynyt verenkierto munuaisissa, on todennäköisesti suurempi riski kehittää akuutti munuaisvaurio yliannostuksen seurauksena. Kuitenkin myös suoria COX-inhibitioon liittymättömiä toksisia vaikutuksia munuusiin on raportoitu (Lomas ja Grauer 2015).

Kyy (Vipera berus) myrkky sisältää proteaaseja, peptidaaseja, hyaluronidaaseja ja fosfolipaaseja, jotka ovat sytotoksisia ja häiritsevät veren hyytymistä aiheuttaen hemolyysiä, eli punasolujen hajoamista verisuonissa (Reading 1996). Ne myös lisäävät sytokiinien tuotantoa, mikä voi johtaa verisuonten lisääntyneeseen läpäisevyyteen, verisuonten laajenemiseen ja kudosturvotukseen (Reading 1996, Lervik ym. 2010). Vakavissa tapauksissa nesteiden menetys ja verisuonten laajentuminen voi johtaa verenpaineen laskuun, hypovolemiaan ja shokkiin (Lervik ym. 2010). Nämä tekijät heikentävät munuaisten verenkiertoa ja altistavat ne iskeemiselle vauriolle (Ettinger ym. 2017).

Tässä lisensiaatin tutkielmassa kirjallisuuskatsausosiossa tarkastellaan munuaissairauksista kertovia virtsanäytelöydöksiä. Tutkimusosiossa tarkastellaan tutkimuksen virtsanäytelöydöksiä. Tutkimuksessamme virtsan sedimenttitutkimus toteutettiin eläinten virtsan sedimenttitutkimuksin kehitetyllä IDEXX SediVue Dx® (myöhemmin SediVue) -laitteella, joka ottaa virtsanäytteestä korkearesoluutioisia kuvia, tallentaa ne ja tulkitsee ne automaattisesti. Laitteen tekemässä automaattisessa sedimenttitutkimuksessa etuja verrattuna manuaaliseen mikroskointiin ovat

nopeus ja pieni tarvittava virtsamäärä, vain 165 mikrolitraa. Standardisoitu tutkimusmenetelmä vähentää tulkitsijoiden välistä hajontaa ja laitteen käyttämä hellävarainen sentrifugointi vähentää hauraiden partikkelien hajoamisesta johtuvia virhetuloksia verrattuna tavallisesti laboratoriossa käytettyihin kierroslukemiin (Vasilatis ym. 2019).

Tutkimuksemme tarkoituksena oli etsiä virtsan sedimentistä löydöksiä, jotka paljastaisivat akuutin munuaisvaurion syntymisen koirilla jo ennen, kuin seerumin munuaisarvot ovat ehtineet nousta, ja verrata tuloksia muihin virtsan perinteisiin merkkiaineisiin. Hypoteesina oli, että sedimentistä löytyisi akuutista munuaisvauriosta kertovia merkkejä, kuten lieriöitä ja epiteelisoluja jo varhaisessa vaiheessa. Tavoitteena oli selvittää, missä vaiheessa munuaisvaurio voidaan todentaa virtsanäytteessä ja voidaanko virtsanäytelöydösten perusteella asettaa koiralle ennustetta. Tutkimus tehtiin osana laajempaa tutkimusta, jossa etsittiin uusia akuutin munuaisvaurion merkkiaineita verestä ja virtsasta. Tässä tutkielmassa ei käsitellä tutkimukseen liittyviä verinäytelöydöksiä eikä tarkemmin toistaiseksi pääasiassa tutkimuskäytössä olevia uusia virtsan entsyymimerkkiaineita.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Akuutti munuaisvaurio

Akuutti munuaisvaurio johtaa äkilliseen munuaisten toimintakyvyn heikkenemiseen ja se on usein seurausta iskeemisestä tai toksisesta vauriosta munuaisissa. Akuutti munuaisvaurio voi seurata esim. hemodynamiikan häiriötiloista (hypovolemia, hypotensio), infektiosta (mm. babesioosi, leptospiroosi, pyelonefriitti), munuaistoksikanteista (mm. jotkut lääkeaineet kuten tulehduskipulääkkeet ja gentamysiini, etyleeniglykoli) tai virtsatietukoksesta. Myös mm. asidoosi, sepsis, vaskuliitti, diabetes mellitus ja laajat muut elinvauriot altistavat myös munuaisvauriolle. Akuutin munuaisvaurion vakavuusaste vaihtelee (Vaden ym. 1997, Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017, Legatti ym. 2018)

2.1.1 Akuutin munuaisvaurion diagnosoiminen

Akuutti munuaisvaurio jaetaan neljään vaiheeseen: alkuvaiheeseen, etenemisvaiheeseen, ylläpitovaiheeseen ja toipumisvaiheeseen. Alkuvaiheessa annettu hoito voi estää tilan etenemisen. Etenemisvaiheessa solujen hapenpuute ja inflammatoriset reaktiot etenevät, mikä voi johtaa solujen tuhoutumiseen. Ylläpitovaiheessa soluihin on syntynyt palautumattomia vaurioita. Toipumisvaiheessa palautuvat muutokset korjaantuvat (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017).

Akuutin munuaisvaurion diagnoosi perustuu tyypillisesti seerumin kreatiniinin, urean ja SDMA:n nousun havaitsemiseen ja muutoksiin virtsantuotannon määrässä (Elliot ym. 2007, Keir ja Kellum 2015, Ettinger ym. 2017, Legatti ym. 2018). Vakavien sairauksien yhteydessä, esim. sepsiksessä, sekä inflammaation seurauksena kreatiniinin tuotanto ja siten sen määrä veressä voi jopa laskea, mikä hankaloittaa akuutin munuaisvaurion diagnosoimista (Keir ja Kellum 2015, Moore ym. 2018). Ihmisillä tiedetään lihasmassan pienentyvän sairaalahoidon pitkittyessä, jolloin seerumin kreatiniinipitoisuus laskee. Myös nestehoito laskee seerumin kreatiniinipitoisuutta (Moore ym. 2018). Vastaavasti aina ei tapahdu piikkiä kreatiniinin nousussa, vaan arvo voi pysyä tasaisena (Thoen ja Kerl 2011, Keir ja Kellum 2015, Moore ym. 2018). Toisaalta esimerkiksi käärmeenpureman

yhteydessä syntyvä lihasvaurio voi nostaa seerumin kreatiniinipitoisuutta ilman, että munuaisiin on aiheutunut vauriota (Aroch ja Harrus 1999). Virtsan sedimentin tutkimusta suositellaankin akuutin munuaisvaurion diagnosoimisessa muiden tutkimusten lisäksi (Vaden ym. 1997, Bagshaw ym. 2012).

Atsotemialla tarkoitetaan ei-proteiiniperäisten typpiyhdisteiden, kuten urean ja kreatiniinin kertymistä verenkiertoon. Munuaisten vajaatoiminnassa atsotemia kehittyy, kun munuaisten toimintakyvystä on jäljellä enää alle 25%. Uremialla tai ureemisella syndroomalla tarkoitetaan kliinisiä oireita, jotka esiintyvät yhdessä atsotemian kanssa vakavan munuaisten toimintahäiriön seurauksena. Uremian kliinisiä oireita ovat lisääntynyt juominen ja virtsaaminen, elimistön kuivuminen, syömättömyys, oksentelu, pahanhajuinen hengitys, suun haavaumat ja ruuansulatuskanavan verenvuodot. Lisääntyneestä juomisesta eli polydipsiasta puhutaan, kun päivittäinen vedenkulutus koiralla on yli 100 ml/kg/vrk (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017). Lisääntynyt juominen tulee ottaa kuitenkin huomioon, vaikka se ei vielä ylittäisi raja-arvoa (Elliot ym. 2007).

Useat virtsan parametrit voivat ennustaa akuutin munuaisvaurion syntymistä. Normaalisti virtsa on kirkasta tai hieman sameaa, mutta sen sameus lisääntyy siinä olevien partikkelien, kuten solujen, lieriöiden, kiteiden, mikro-organismien ja liman lisääntyessä (Elliot ym. 2007). Normaali virtsantuotantomäärä riippuu elimistön nestetasapainosta: hyvin nesteytetyllä koiralla <1 ml/kg/h pidetään absoluuttisena oliguriana, eli vähävirtsaaisuutena, kun taas aggressiivista nestehoitoa saavalla koiralla jo 1-2 ml/kg/h voidaan pitää suhteellisenä oliguriana. Yli 2 ml/kg/h pidetään liiallisena virtsantuotantona eli polyuriana. Akuutissa munuaisvauriossa voi ilmetä sekä lisääntynyttä että vähentynyttä virtsantuotantoa (Ettinger 2017). Myös glukoosin ja proteiinien esiintyminen virtsassa voivat viitata akuuttiin munuaisvaurioon (Vaden ym. 1997).

Munuaiset säätelevät osaltaan systeemistä verenpainetta RAAS-järjestelmän (reniini-aldosteroni-angiotensiini -järjestelmä) kautta ja jopa 80 %:lla vakavasta akuutista munuaisvauriosta kärsivistä koirista on kohonnut verenpaine. Akuutissa munuaisvauriossa tyypillisiä ovat myös häiriöt elektrolyyttitasapainossa ja happoemästasapainossa. Munuaistubulukset säätelevät elimistön

happoemästasapainoa ja niiden toiminnan häiriintyminen voi johtaa renaaliseen tubulaariseen asidoosiin, eli munuaisperäiseen elimistön happamoitumiseen. Samalla esiintyy usein hypokalemiaa, eli seerumin kaliumpitoisuuden laskua, ja hyperkloremiaa, eli seerumin kloridipitoisuuden nousua. Toisaalta akuutissa munuaisvauriossa voi olla myös hyperkalemiaa. Veren natriumpitoisuus voi munuaissairauksissa nousta, kun munuaisten kautta sekä menetetään runsaasti vettä virtsaan että natriumin erittäminen virtsaan heikkenee. Lisääntynyt veden menetys virtsaan johtaa antidiureettisen hormonin erityksen lisääntymiseen, mikä aiheuttaa lisääntyneen janontunteen (Ettinger ym. 2017).

2.1.2 Ennuste akuutissa munuaisvauriossa

Erässä tutkimuksessa akuutti munuaisvaurio osoittautui melko yleiseksi sairaalahoitoon tuomisen syyksi koirilla: sairaalahoitoon tuoduista koirista n. 15 %: lla todettiin akuutti munuaisvaurio (Thoen ja Kerl 2011). Kuolleisuus akuuttiin munuaisvaurioon on kirjallisuuden mukaan koirilla n. 50%, mikä vastaa ihmisten kuolleisuutta akuutissa munuaisvauriossa (Vaden ym. 1997, Thoen ja Kerl 2011, Legatti ym. 2018). Tosin kuolleisuus septisen peritoniitin yhteydessä tavattavassa akuutissa munuaisvauriossa on ollut jopa 86% (Thoen ja Kerl 2011). Kuolleisuus on kuitenkin vähäisempää etiologialtaan infektiivisissä kuin ei-infektiivisissä akuuteissa munuaisvaurioissa. Tämä selittyy osin sillä, että munuaistoksiinit ovat laajasti eläinten saatavilla ja monet niistä, kuten etyleeniglykoli, aiheuttavat varsinkin hoidon viivästyessä lähes aina kuolemaan johtavan munuaisvaurion (Vaden ym. 1997, Legatti ym. 2018, Davy-Moyle ja Londoño 2019). Ennuste heikkenee, mikäli eläimellä ilmenee oliguriaa tai anuriaa (virtsan tuotannon loppuminen) (Vaden ym. 1997, Legatti ym. 2018). Koirilla on havaittu kuolleisuuden nousevan akuutissa munuaisvauriossa seerumin kreatiniinin noustessa (Vaden ym. 1997, Keir ja Kellum 2015).

Munuaistubulukset voivat parantua, mikäli niiden tyvikalvo ei ole vaurioitunut (Elliot ym. 2007). Kaikki muutokset eivät kuitenkaan ole palautuvia: Vadenin ym. (1997) tutkimuksessa neljäsosalle koirista kehittyi krooninen munuaisten vajaatoiminta ja vain alle viidesosalla munuaisten toiminta palautui normaaliksi tai lähes normaaliksi akuutin munuaisvaurion jälkeen.

Ennuste akuutissa munuaisvauriossa on parempi, kuin kroonisessa munuaisten vajaatoiminnassa, mutta potilaat ovat usein erittäin sairaita, ja niiden hoidossa voi olla haastavaa päästä akuutin vaiheen yli paranemisvaiheeseen (Elliot 2007). Vastaaminen annettuun hoitoon on tärkein ennusteeseen vaikuttava tekijä. Hoidon kulmakivi on suonensisäinen nestehoito ylinesteytymistä välttämällä sekä elektrolyyttitasapainon ja asidoosin korjaaminen, mikä auttaa suojelemaan munuaisia lisävaurioilta (Vaden ym. 1997, Elliot 2007, Thoen ja Kerl 2011, Keri ja Kellum 2015, Legatti ym. 2018).

2.2 Krooninen munuaisten vajaatoiminta

Krooninen munuaisten vajaatoiminta on koirien yleisin munuaisten sairaus ja yleisin uremian aiheuttaja. Kroonisella munuaisten vajaatoiminnalla tarkoitetaan tilaa, jossa osa munuaisten toiminnasta on menetetty pitkittyneen ja yleensä myös etenevän prosessin vuoksi. Samaan aikaan nähdään myös rakenteellisia muutoksia munuaisissa. Rakenteelliset muutokset eivät kuitenkaan täysin korreloi toiminnallisen muutoksen kanssa, sillä munuaisissa on runsaasti ylimääräistä toimintakapasiteettia (Elliot ym. 2007).

Kroonisessa munuaisten vajaatoiminnassa atsotemia kehittyy, kun munuaisten toimintakyvystä on jäljellä enää noin 25%. Tämän vuoksi eläimellä voi olla munuaisten vajaatoiminnan oireita ilman, että munuaisarvot veressä ovat ehtineet nousta. Uremia kehittyy, kun munuaisten koko toimintakyvystä on jäljellä enää alle 10 %. Muutokset ovat useimmiten palautumattomia. Synnynnäisissä munuaisten kehityshäiriöissä munuaisten vajaatoiminta voi ilmetä jo alle 3-vuotiailla eläimillä, mutta yleensä munuaisten vajaatoiminta on keski-ikäisten ja vanhojen eläinten sairaus koskettaen n. 10 % vanhoista koirista. Kroonisessa munuaisten vajaatoiminnassa oireet ovat samanlaisia, kuin akuutissa munuaisvauriossa. Kroonisessa munuaisten vajaatoiminnassa ennuste munuaisten toiminnan palautumiselle on huono, mutta hyvällä hoidolla voidaan elämänlaatua parantaa (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017).

2.3 Virtsanäytteen otto ja tutkiminen

Virtsanäytteen ottotapa ja käsittely voivat vaikuttaa virtsanäytteen tulkintaan. Virtsanäyte voidaan ottaa kolmella eri tavalla: vapaasti laskettuna, kystosenteesillä eli rakkopunktiolla tai katetroimalla (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017). Perustutkimuksia varten suosituksena on ottaa näytteeksi ainakin 6 ml virtsaa (Elliot ym. 2007).

Vapaasti laskettu virtsanäyte voidaan ottaa kesken normaalin virtsaamistahtuman tai rakkoa käsin painamalla. Käsillä rakon painaminen voi kuitenkin johtaa mahdollisen infektiivisen virtsan siirtymiseen virtsanjohtimiin, eturauhaseen tai munuaisiin. Painaminen voi myös vaurioittaa rakkoa. Vapaasti laskettu virtsanäyte on suositeltavaa ottaa keskivirtsasta, jolloin kontaminaatoriski on mahdollisimman vähäinen. Näytteen kontaminoitumista soluilla, bakteereilla ja virtsaputken pään, genitaalialueen, karvojen ja ihon debriksellä ei voida kuitenkaan täysin välttää (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Katetroinnissa steriili katetri työnnetään aseptisesti virtsaputken kautta virtsarakkoon. Katetroinnissa virtsanäytteeseen tulee punasoluja, levyepiteelisoluja ja välimuotoisia epiteelisoluja katetrin kulkiessa virtsaputkessa. Katetrointi voi altistaa virtsatietulehdukselle ja lisämunuaisen kuorikerroksen liikatoimintaa, diabetesta ja munuaissairautta sairastavilla potilailla on suurempi riski katetroinnin jälkeisen virtsatieinfektion kehittymiselle. Katetrointi voi aiheuttaa trauman virtsaputkeen tai virtsarakkoon, myös perforaatio on mahdollinen (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Kystosenteesissä virtsanäyte otetaan rakosta vatsanpeitteiden läpi punktoimalla neulan ja ruiskun avulla ultraääniohjauksessa. Kystosenteesimenetelmällä otetusta virtsanäytteestä saadaan tehtyä luotettava bakteeriviljely. Kystosenteesinäytteeseen tulee usein verta, mikä häiritsee mikroskooppisen hematurian (ks. virtsan liuskatesti, veri) arviointia. Näytteenottotekniikan huonoja puolia ovat mahdollinen virtsarakon repeäminen, vagusreaktion indusoituminen, kasvainsolujen leviäminen neulan välityksellä sekä virtsan vuotaminen vatsaonteloon. Riski virtsarakon repeämiselle ja virtsan vuotamiselle vatsaonteloon on kuitenkin vähäinen, ellei virtsarakko ole ylitäyttynyt tai rakon seinämässä ole patologista heikkoutta (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Virtsanäyte pitäisi tutkia tunnin sisällä näytteenotosta artefaktojen syntymisen välttämiseksi. Mikäli näytettä ei päästä heti tutkimaan, sitä voidaan säilyttää 6-12 tunnin ajan jääkaapissa. Kylmyys estää bakteerien ylikasvua, vähentää solujen ja lieriöiden rakennemuutoksia, eikä sillä ole vaikutusta kemiallisiin tutkimuksiin, kunhan näyte on huoneenlämpöistä tutkimushetkellä (Elliot ym. 2007). Näytteen jäätyminen voi tuhota bakteerisolut, samoin pitkä säilytys jääkaapissa (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Säilyttäminen jääkaapissa voi ajan myötä aiheuttaa kiteiden, erityisesti kalsiumoksalaattidihydraattien ja struviittien, muodostumista (Elliot ym. 2007). Virtsanäytteen solut rappeutuvat nopeasti, joten niiden arviointi on parasta tehdä tuoreesta virtsanäytteestä tai lähettää ilmakeivästä sivelnäytteitä tutkittavaksi laboratorioon (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

2.4 Virtsan ominaispaino

Virtsan ominaispainon mittaaminen refraktometrillä perustuu valon taittumiseen. Virtsan ominaispainon tyypilliset rajat koirilla ovat 1,015-1,045, mutta suurimmillaan virtsan ominaispaino voi koirilla olla jopa 1,070. Virtsan ominaispainoon vaikuttavat mm. elimistön nestetasapainotila, elektrolyyttien pitoisuudet, kreatiniinin ja urean määrä sekä tietyt lääkeaineet kuten kortikosteroidit, diureetit, epilepsialääkkeet ja annettu nestehoito (Rizzi ym. 2017). Virtsassa oleva lima, solut, kiteet ja bakteerit vaikuttavat valon taittumiseen refraktometrissä, mikä voi johtaa tuloksen yliarvioimiseen (Elliot ym. 2007). Myös esimerkiksi glukoosi ja proteiinit nostavat ominaispainoa (Rizzi ym. 2017).

Akuutissa munuaisvauriossa virtsa voi olla konsentroitunutta (kuitenkin $<1,035$) tai isostenurista eli sen ominaispaino on 1,008-1,013. Isostenurialla tarkoitetaan sitä, että munuaiskerässuodoksen ominaispaino on sama kuin plasmalla, eli munuaiset eivät ole väkevöittäneet eivätkä laimentaneet virtsaa. Myös terveellä eläimellä virtsa voi olla hetkellisesti isostenurista, mutta pysyvästi isostenurinen virtsa yhdistettynä atsotemiaan ja elimistön kuivumiseen viittaa munuaisten vajatoimintaan (Ettinger ym. 2017). Jos ominaispaino on alle 1,008, on virtsa hypostenurista eli plasmaa laimeampaa, jolloin munuaisten toiminnanvajausta on epätodennäköinen (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

2.5 Virtsan proteiini/kreatiniini -suhde

Virtsan proteiini/kreatiniini -suhteen (eng. *urine protein/creatinine ratio*, lyhenne UPC) määrittäminen on luotettava ja tarkka keino tunnistaa ja arvioida proteiinin esiintymistä virtsassa (LeVine ym. 2010, Shropshire ym. 2018). Normaalisti koirilla erittyy korkeintaan 10-20 mg/proteiinia virtsaan vuorokaudessa. Jotkin pienet proteiinit (alle 7000 Daltonin kokoiset) takaisinimeytyvät proksimaalisissa munuaistiehyissä, ellei niiden konsentraatio ylitä takaisinimeytymiskynnystä tai ellei munuaistubulusten toiminta ole heikentynyt. Proteiinien menetys virtsaan voi johtaa plasman onkoottisen paineen laskuun, veren korkeaan kolesterolipitoisuuteen, korkeaan verenpaineeseen, veren hyytymishäiriöihin ja lihaskatoon (Elliot ym. 2007). Virtsan korkea proteiinipitoisuus voi myös vaurioittaa munuaistiehyitä toksisten tai reseptorivälitteisten reittien tai lysosomaalisten hajotusmekanismien kautta. Veden takaisinimeytyminen munuaistiehyissä voi johtaa proteiinien pakkautumiseen ja lieriöiden syntymiseen (Jacob ym. 2005).

Useat tekijät voivat aiheuttaa proteinuriaa, eli proteiinien esiintymistä virtsassa. Proteinurian taustasyt jaetaan prerenaalisiin, renaalisiin ja postrenaalisiin syihin. Prerenaalisia syitä ovat mm. vapaan myoglobiinin ja hemoglobiinin sekä immunoglobuliinien esiintyminen plasmassa. Tällaisessa tilanteessa virtsassa esiintyy normaalia enemmän proteiinia plasman poikkeavan proteiinipitoisuuden vuoksi munuaistubulusten toiminnan ollessa normaali. Renaaliset eli munuaisperäiset syyt jaetaan vielä toiminnallisiin ja patologisiin syihin. Toiminnallisia syitä proteinurialle ovat esim. kuumeen tai voimakkaan rasituksen seurauksena tapahtuva muutos munuaisten fysiologiassa, jolloin proteiinien menetys virtsaan on yleensä lievää ja palautuu normaaliksi tilan parannuttua (Lees ym. 2005). Korkea verenpaine lisää proteiinien erittymistä virtsaan (Ettinger ym. 2017). Munuaisten patologiasta johtuva proteinuria voi olla glomerulusten, tubulusten tai interstitiumin sairaudesta johtuva. Pienet proteiinit kulkevat vapaasti glomerulusten filtraatioesteiden läpi, mutta suurin osa takaisinimeytyy munuaistubuluksissa. Munuaistubulusten sairaudessa virtsassa esiintyykin pääasiassa pieniä proteiineja, kun taas glomerulusten sairaudessa virtsaan erittyy myös suuria proteiineja. Elektroforeesimenetelmällä voidaan erottaa nämä kaksi munuaisvaurion tyyppiä toisistaan (De Loor ym. 2013). Postrenaalisia syitä proteinurialle ovat mm.

virtsaateiden verenvuoto (esim. kasvainsairauden, trauman, infektion tai inflammaation takia ja kontaminaatio genitaalialueista (Lees ym. 2005).

UPC-arvoa alle 0,2 pidetään normaalina ja tulosta 0,2-0,5 rajatapauksena. Jos UPC-arvot ovat toistuvasti yli 0,5 vähintään kolmessa näytteessä, jotka on otettu vähintään kahden viikon välein toisistaan, voidaan proteinuriaa pitää munuaisperäisenä. UPC-arvon ollessa $\geq 2,0$, on taustasyynä proteinurialle yleensä munuaiskerästen sairaus (Lees ym. 2005). Kuolleisuuden on todettu nousevan UPC-arvon noustessa $\geq 1,0$ ja riski kasvaa edelleen suhteen noustessa (Jacob ym. 2005). Munuaisperäisen proteinurian määrittäminen onkin tärkeää arvioitaessa munuaissairauden vakavuusastetta ja hoidon suunnittelussa ja seurannassa (Jacob ym. 2005, Lees ym. 2005, Levine ym. 2009). UPC-arvoissa on jonkin verran päivittäistä biologista vaihtelua, mutta nousevaa kehityssuuntaa voidaan pitää huolestuttavana merkinä (Nabity ym. 2007). Virtsanäytteen seisottaminen yli neljän tunnin ajan huoneenlämmössä tai 12 h jääkaappilämpötilassa (+4 astetta) nostaa UPC-arvoa, mutta jäädyttäminen ei vaikuta arvoon (Rossi ym. 2012). Sillä, missä vaiheessa virtsaamistapahtumaa (alku-, keski-, loppuvirtsasta) näyte on otettu, ei ole havaittu olevan vaikutusta UPC-arvoon (Duffy ym. 2015).

2.6 Virtsan liuskatesti

Eläimille ja ihmisille kehitetyt virtsan liuskatestit eivät eroa toisistaan, eli eläimille voidaan käyttää myös ihmisille kehitettyjä liuskatestejä. Liuskatesti on luotettava tapa arvioida virtsan pH:ta, proteiinia, verta, glukoosia, ketoaineita ja bilirubiinia. Eläimillä liuskatestin antamat ominaispaino-, urobilinogeeni-, nitriitti- ja leukosyyttitulokset eivät kuitenkaan ole luotettavia. Liuska on suositeltavaa kastaa virtsaan kokonaan, sillä yksittäisten pisaroiden tiputtaminen tyynyille ei välttämättä anna luotettavaa tulosta, jos tyyny ei kastu tarpeeksi (Rizzi ym. 2017). Virtsa ei saa kuitenkaan valua tyynyltä toiselle, koska tyynyjen sisältämät reagenssit voivat reagoida toistensa kanssa (Elliot ym. 2007). Tutkimuksessa tulee käyttää huoneenlämpöistä virtsaa, sillä kylmässä entsyymireaktiot tapahtuvat hitaammin, mikä voi johtaa vääriin negatiivisiin tuloksiin (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Lisäksi tulee huomioida tulosten värimuutoksiin perustuvan lukemisen subjektiivisuus, mikäli käytössä ei ole automaattista lukijaa (Elliot ym. 2007). Virtsan epänormaali

väri voi myös vaikuttaa tulosten arviointiin, esimerkiksi virtsan verisyys nostaa liuskatestin veri-, bilirubiini- ja ketoainetuloksia sekä laskee pH:ta (Albasan ym. 2003).

2.6.1 PH

PH-tyynyn värimuutos perustuu metyyliipuna- ja bromitymolisinisen reaktioihin vetyionien kanssa. Koirilla virtsan pH vaihtelee tyypillisesti 5,5-7,5 välillä. Virtsassa oleva hiilidioksidi haihtuu ajan myötä, joten viivästys virtsan tutkimisessa voi johtaa virheellisen korkeaan pH-arvon tulkintaan. Emäksinen virtsa voi altistaa virtsakiteiden muodostumiselle, erityisesti struviittikiteiden. Emäksinen virtsa, erityisesti pH:n noustessa yli 8, voi myös aiheuttaa punasolujen, valkosolujen ja lieriöiden hajoamista. Virtsatieinfektiossa virtsan pH voi nousta ureaasia tuottavien bakteerien muuttaessa ureaa ammoniakiksi. Munuaistubulusten toiminnan häiriöissä munuaisten pH:n säätelykyky heikkenee, mikä voi vaikuttaa virtsan pH-arvoon. Virtsan pH-arvo voi myös epäsuorasti heijastaa elimistön happoemästasapainoa, kun munuaiset kompensoivat systeemisen pH-tason muutoksia muuttamalla vetyionien erityksen määrää. Kuitenkin elimistön happoemästasapainon arvioimiseen verikaasuanalyysi on luotettavin menetelmä (Rizzi ym. 2017).

2.6.2 Proteiinit

Virtsan liuskatestin proteiinityyny sisältää pH-arvoon pohjautuvan indikaattorin, joka vaihtaa väriä sitoutuessaan negatiivisesti varautuneen proteiinin aminoryhmään. Värimuutos on herkempi albumiinille kuin globuliineille, hemoglobiinille, myoglobiinille tai mukoproteiineille, sillä albumiinissa on enemmän vapaita aminoryhmiä. Proteiinityyny on muita liuskatestin tyynyjä herkempi virtsan värille, mikä voi johtaa virhetuloksiin proteiinimäärää arvioitaessa herkemmin kuin muiden liuskan testien kohdalla. Negatiivinen tulos on kuitenkin yleensä luotettava (Rizzi ym. 2017).

Proteiinitulos liuskatestissä on usein yhteydessä virtsan ominaispainoon, koska virtsan proteinikonsentraatio on läheisesti yhteydessä virtsan väkevyyteen. Liuskatestin proteiinitulos 2+ matalan ominaispainon virtsasta viittaa suurempaan proteiinien menetykseen virtsaan, kuin sama tulos korkean ominaispainon virtsasta. Liuskatestin tulos "vähän" (engl. *trace*) vastaa 5-20 mg/dl proteiinia, kun taas tulos 4+ vastaa yli 1000 mg/dl. Hyvin emäksisessä virtsassa (pH yli 8) voi

kuitenkin olla virheellisesti korkea proteiinitulos, sillä korkea pH voi ylittää tyynyn puskurointikyvyn. Myös virtsan seisotus tyynyllä voi johtaa puskurikyvyn ylittymiseen ja virhepositiiviseen tulokseen (Rizzi ym. 2017). Virhepositiivinen tulos voi johtua myös virtsassa olevista valkosoluista, verestä tai bakteereista tai käytetyistä lääkeaineista (Elliot ym. 2007). Vääriä negatiivisia tuloksia saadaan hyvin laimeasta virtsasta tai jos virtsan pH on hyvin matala (Rizzi ym. 2017).

2.6.3 Glukoosi

Glukoosityyny virtsan liuskatestissä sisältää glukoosioksidaasia, joka reagoidessaan glukoosin kanssa aiheuttaa glukoosin määrään verrannollisen värimuutoksen tyynyssä. Liuskatestillä voidaan havaita glukoosia virtsassa, kun sen pitoisuus ylittää 100 mmol/l. Vanhentunut liuska voi antaa väärän negatiivisen tuloksen. Väärä negatiivinen tulos voi johtua myös virtsassa olevasta askorbiinihaposta, salisylaateista tai tetrasykliinistä. Joissain testiliuskoissa on muovipinnoite glukoosityynyn päällä, ja virtsan on tarkoitus imeytyä tyynyyn sen sivuilta. Jos virtsaa tiputetaan vain pisara tyynyn päälle, voi tulos olla todellista matalampi tai virhenegatiivinen. Väärä positiivinen tulos voidaan saada, jos virtsassa on formaldehydiä, kloridia, hypokloriittia tai vetyperoksidia (esim. näyte otettu desinfioidulta pinnalta) (Rizzi ym. 2017).

Normaalisti virtsassa ei ole glukoosia sellaisia määriä, että se voitaisiin testiliuskalla havaita (Rizzi ym. 2017). Virtsaan erittyy glukoosia, jos veren glukoosipitoisuus ylittää proksimaalisten munuaistubulusten takaisinimeytymiskynnyksen. Koirilla glukoosin takaisinimeytymiskynnyks on 180-220 mmol/l. Glukosuriaa (sokerin erittymistä virtsaan) aiheuttavat monet verensokeria nostavat systeemisairaudet kuten diabetes mellitus, lisämunuaisten kuorikerroksen liikatoiminta, akromegalia ja feokromosytooma sekä muut verensokeria nostattavat tilat ja hoidot kuten voimakas stressi ja dekstroosia eli rypälesokeria sisältävät lääkkeet ja infuusionesteet. Virtsaan voi erittyä glukoosia myös munuaistubulusten toiminnan heikentyessä esim. Fanconin syndroomassa, primäärissä renaalisessa glukosuriassa tai pitkälle edenneessä kroonisessa munuaisten vajaatoiminnassa. Esimerkiksi *Leptospira* ssp -bakteerit voivat aiheuttaa akuuttia munuaisvauriota, jossa virtsaan erittyy glukoosia (Tangeman ja Littman 2013). Tällöin potilaan verensokeri on normaali, mutta virtsassa havaitaan glukoosia (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017, Rizzi ym. 2017).

Glukoosi nostaa virtsan ominaispainoa, ja glukosurisilla potilailla virtsan ominaispaino onkin usein >1,025 (Elliot ym. 2007).

2.6.4 Veri

Liuskatestin verityyny sisältää peroksidaasisubstraattia, joka reagoi punasoluissa, hemoglobiinissa ja myoglobiinissa olevien raudan hemiryhmien kanssa. Tämä kemiallinen reaktio johtaa värimuutokseen tyynyssä (Rizzi ym. 2017).

Hematuria eli veren esiintyminen virtsassa voi johtua verenvuodosta missä tahansa virtsateissä, uroksilla myös eturauhasesta, esinahasta tai peniksestä ja naarailla myös kohdusta, emättimestä ja vulvasta (Elliot ym. 2007). Akuuttiin munuaisvaurioon liittyvä hematuria voi johtua esimerkiksi akuutista tubulaarisesta nekroosista (mm. aminoglykosidilääkityksen ja etyleeniglykolimyrkytyksen yhteydessä), akuutista glomerulonefriitistä, leptospiroosista, pyelonefriitistä tai suorasta traumasta munuaisiin (Forrester 2004). Makroskooppisesta hematuriasta puhutaan, kun virtsassa voidaan silminnähden havaita veren aiheuttama punainen tai ruskea värimuutos ja mikroskooppisesta hematuriasta silloin, kun virtsassa ei silmin nähden havaita värimuutosta, mutta mikroskoopilla tarkastellen voidaan osoittaa näytteessä olevan punasoluja (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Näytteenotto kystosenteesillä tai katetroinnilla voi aiheuttaa virhepositiivisen tuloksen, kun veri on todellisuudessa peräisin näytteenoton aiheuttamasta verisuonivauriosta (Rizzi ym. 2017).

Hemoglobiinia voi esiintyä virtsassa intravaskulaarisen hemolyysin eli verisuonissa tapahtuvan punasolujen hajoamisen vuoksi (esim. immuunivälitteisen sairauden, infektion tai myrkytyksen seurauksena), jolloin hemoglobiinia vapautuu plasmaan, josta sitä erittyy munuaisten kautta virtsaan. Tällöin virtsassa ei nähdä punasoluja (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Hemoglobiinin esiintyminen virtsassa voi johtua myös punasolujen hajoamisesta virtsateissä, jolloin virtsanäytteessä voidaan nähdä nk. haamupunasoluja. Myös hyvin emäksisessä virtsassa (pH >8) ja hyvin laimeassa virtsassa (ominaispaino <1,010) voi tapahtua punasolujen hajoamista (Elliot ym. 2007). Myös hemoglobiini voi aiheuttaa virtsaan värimuutoksen (ruskean, punaisen tai vaaleanpunaisen) (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Myoglobiini on lihaksissa esiintyvä pieni proteiini ja se on harvinainen löydös koirien virtsassa (Rizzi ym. 2017). Sitä voi esiintyä massiivisen lihasvaurion yhteydessä, kun lihassoluista vapautuu myoglobiinia plasmaan. Myös myoglobiini voi aiheuttaa virtsaan ruskean tai punaisen sävyn (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Ihmisillä tiedetään veren ja virtsan myoglobiinipitoisuuden nousun johtavan usein akuuttiin munuaisvaurioon ja hiljattain Chen ym. (2018) osoittivat ensimmäisinä, että myös koiralla massiivisen lihasvaurion yhteydessä esiintyvällä myoglobinurialla on yhteys akuuttiin munuaisvaurioon.

2.6.5 Bilirubiini

Terveellä koiralla voidaan havaita vähän (liuskatestin tulos 1+) bilirubiinia konsentroituneessa virtsassa (ominaispaino >1,030). Bilirubiinin esiintyminen virtsassa voi johtua myös maksan tai sappiteiden sairaudesta tai intravaskulaarisesta hemolyysistä (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Joillain potilailla virtsassa oleva bilirubiini voi muodostaa bilirubiinikiteitä, mutta bilirubiinin esiintymisellä virtsassa ei ole suoraa yhteyttä munuaisvaurioon (Rizzi ym. 2017).

2.6.6 Ketoaineet

Ketoaineiden esiintymisellä virtsassa ei ole suoraa yhteyttä akuuttiin munuaisvaurioon, mutta jotkin lääkeaineet, kuten tulehduskipulääkemyrkytysten hoidossa käytettävä N-asetyylikysteiniini voi aiheuttaa virhepositiivisen tuloksen (Rizzi ym. 2017).

2.7 Virtsan sedimentti

Virtsan sedimenttitutkimuksessa virtsanäytettä sentrifugoidaan 1500 kierrosnopeudella viiden minuutin ajan, jolloin virtsassa olevat kiinteämpi materiaali eli sedimentti valuu putken pohjalle. Näytteestä pipetoidaan pisara mikroskooppilasille ja päälle laitetaan peitinlasi. Sedimentissä ovat mm. näytteen sisältämät solut, lieriöt ja kiteet. Näytteen voimakasta sekoittamista tai ravistamista tulee välttää solujen ja lieriöiden hajoamisen ehkäisemiseksi. Sedimentti voidaan värjätä lisäämällä 1-2 pisaraa väriainetta, kuten Sternheimer-Malbin tai metyleenisiniä, jolloin näytteen sisältämät

solut tulevat helpommin tunnistettaviksi. Sytologista tutkimusta varten sedimentti voidaan värjätä myös ns. Diff-Quick-menetelmällä, jossa mikroskooppilasille laitetaan pisara näytettä, joka levitetään varovasti lasille ja annetaan ilmakeivä, jonka jälkeen näyte värjätään. Väriaineet voivat kuitenkin sisältää mm. bakteereita, sieniä ja debristä, mikä voi johtaa näytteen virheelliseen tulkintaan (Rizzi ym. 2017).

Mikroskoopilla sedimenttinäytettä tutkitaan 10- ja 40-kertaisilla suurennoksilla ja löydökset lasketaan 10 näkökentästä. Tulokset ilmoitetaan arvioituna lukumääränä näkökenttää kohti. 10-kertaisella suurennoksella tarkasteltu tulos ilmoitetaan tuloksena lpf (low power field) ja 40-kertaisella suurennoksella tarkasteltu tulos ilmoitetaan tuloksena hpf (high power field) (Rizzi ym. 2017).

2.7.1 Solut

2.7.1.1 Välimuotoinen epiteelisolua

Välimuotoiset epiteelisolut ovat vaihtelevan kokoisia, pyöreitä, soikeita tai monikulmaisia soluja, joilla on suuri pyöreä tai soikea tuma yleensä keskellä solua. Joskus tumia voi olla myös kaksi. Ne voivat esiintyä yksittäin tai ryhmissä. Kooltaan ne ovat tyypillisesti 2-4 kertaa suurempia kuin valkosolut, mutta joskus värjäämättömästä näytteestä voi olla vaikea erottaa pientä välimuotoista epiteelisolua ja valkosolua toisistaan (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Välimuotoiset epiteelisolut ovat tyypillisiä soluja virtsateiden seinämissä aina munuaisaltaasta virtsaputken alkuosaan saakka (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Terveillä koirilla pieninä määrinä ne ovat normaalilöydös virtsanäytteessä, mutta niiden esiintyminen suuremmissa määrinä voi johtua myös katetroinnin aiheuttamasta traumasta, virtsakivistä, virtsateiden inflammaatiosta tai infektiosta, kasvainsairaudesta tai kemiallisista ärsykkeistä (mm. jotkut solunsalpaajat) (Rizzi ym. 2017).

2.7.1.2 Levyepiteelisolu

Virtsanäytteessä voidaan nähdä keratinisoituneita ja keratinisoitumattomia levyepiteelisoluja. Keratinisoitumattomat levyepiteelisolut ovat peräisin virtsaputken loppuosasta, esinahasta tai emättimestä. Niiden koko ja muoto vaihtelevat keskikokoisista ja pyöreistä soluista litteisiin ja kulmikkaisiin ja niillä on tyypillisesti pieni pyöreä tuma. Niitä voi olla vaikea erottaa välimuotoisista epiteelisoluista ilman värjäystä. Keratinisoituneet levyepiteelisolut ovat peräisin ihosta. Ne ovat suuria, litteitä ja kulmikkaita soluja, joiden tuma (jos sellainen on) on pieni ja pyöreä. Joskus ne voivat olla muodoltaan tynnyrimäisiä ja ne voivat muistuttaa erehdyttävästi lieriöitä. Levyepiteelisolujen esiintyminen virtsassa kertoo tyypillisesti kontaminaatiosta virtsaputkesta, emättimestä tai iholta, mutta suurten määrien esiintyminen voi olla yhteydessä eturauhaskasvaimeen, estrogeenilääkitykseen tai estrogeeniä tuottavaan kiveskasvaimeen (Rizzi ym. 2017). Kystosenteesinäytteessä niitä voi esiintyä levyepiteelikarsinooman yhteydessä (Elliot ym. 2007).

2.7.1.3 Munuaistubuluksen lieriöepiteelisolu

Munuaistiehyen lieriöepiteelisolut ovat pieniä, vain hieman neutrofiiliä suurempia soluja. Ne ovat tyypillisesti pyöreitä ja niillä on pyöreä tai soikea, ekstremitetisestij sijaitseva tuma. Kissoilla ja diabetesta sairastavilla koirilla niihin voi olla kiinnittyneinä rasvapisaroita, joita ilman munuaistiehyen lieriöepiteelisoluja voi olla mahdoton erottaa pienistä välimuotoisista epiteelisoluista. Värjääminen parantaa niiden erottuvuutta valkosoluista. Lieriöepiteelisoluja tavataan terveidenkin eläinten virtsassa, mutta lisääntynyt määrä viittaa akuuttiin munuaistiehytvauriooon (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Epiteelisolujen normaalimäärän ylärajana pidetään alle kahta epiteelisolua näkökenttää (hpf) kohti (Vaden ym. 2009).

2.7.1.4 Valkosolut

Neutrofiilit ovat tyypillisin valkosolulöydös virtsasta, mutta virtsassa voidaan joskus nähdä myös vähäisiä määriä makrofageja ja lymfosyyttejä. Valkosolut ovat värittömiä, pallomaisia soluja, joilla voi olla rakeinen solulima. Joskus voidaan nähdä myös moniosainen tuma. Valkosolut voivat kasaantua, mutta yleensä ne ovat yksittäin. Ne ovat punasoluja 1,5-2 kertaa suurempia, mutta yleensä välimuotoisia epiteelisoluja pienempiä. Niitä voi olla vaikea erottaa välimuotoisista epiteelisoluista, varsinkin, jos virtsanäyte on ehtinyt seisoa, sillä ne voivat alkaa turvota ja näyttää normaalia suuremmilta. Väkevässä virtsassa valkosolut voivat kutistua ja laimeassa virtsassa ne voivat turvota ja hajota. Eri valkosolutyyppien sytologinen erottaminen toisistaan vaatii näytteen värjäämisen (Rizzi ym. 2017).

Muutamia valkosoluja voidaan nähdä terveen koiran virtsanäytteessä. Normaalimäärän ylärajana pidetään viittä valkosolua näkökenttää (hpf) kohti. Pyuria eli lisääntynyt valkosolujen määrä virtsassa indikoi inflammaatiosta tai infektiosta virtsateissä tai genitaalialueen kontaminaatiosta. Valkosolujen yhdistymistä toisiinsa voidaan nähdä kroonisissa tulehduksissa (Rizzi ym. 2017).

2.7.1.5 Punasolut

Punasolut ovat virtsanäytteessä tyypillisesti pieniä, vaaleita, pyöreitä, kaksoiskoveria soluja, joilla ei ole tumaa. Väkevässä virtsassa punasolut voivat olla myös sahalaitaisia solujen kutistuessa osmoosin vaikutuksesta ja laimeassa virtsassa puolestaan niiden muoto on yleensä muuten normaali, mutta ne voivat olla normaalia pyöreämpiä ja ne voivat hajota solujen turvotessa. Hajonneet punasolut ovat pieniä ja värittömiä renkaita, niin kutsuttuja haamusoluja, ja ne voivat muuttua läpinäkyviksi tai kadota kokonaan näkyvistä. Punasolut voivat muistuttaa rasvapisaroihin värjäämättömässä näytteessä. Rasvapisaroiden koko kuitenkin vaihtelee merkittävästi, niillä ei ole kaksoiskoveraa muotoa ja ne kelluvat, joten ne tarkentuvat mikroskoopilla heti peitinlasin alle (Rizzi ym. 2017).

Punasoluja voi olla virtsassa terveelläkin koiralla. Punasolujen normaalimäärän ylärajana pidetään viittä punasolua näkökenttää (hpf) kohti, mutta niiden määrän voi vaikuttaa myös

näytteenottotekniikka (Rizzi ym. 2017). Normaalialueen suuremman punasolumäärän esiintyminen virtsassa kertoo virtsateiden tai lisääntymiselinten verenvuodosta (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017) esimerkiksi veren hyytymishäiriön, tulehduksen, inflammaation, nekroosin, uudismuodostumien, trauman, loisten tai myrkytyksen vuoksi (Elliot ym. 2007).

2.7.2 Bakteerit

Sauvabakteerit on helpompaa erottaa virtsan debriksestä kuin kokkibakteerit. Joskus bakteerit voivat muodostaa säikeisiä tai haarautuvia rakenteita ja muistuttaa siten sienirihmastoja. Sienten muodostamat rihmastot ovat kuitenkin yleensä halkaisijaltaan leveämpiä. Bakteerien lukumäärä ilmoitetaan tyypillisesti numeroin: 1+ tulos tarkoittaa 0-10 bakteeria näkökenttää (hpf) kohti ja 5+ tulos tarkoittaa yli 100 bakteeria näkökenttää (hpf) kohti (Rizzi ym. 2017).

Tyypillisin bakteerilöydös koirien virtsanäytteessä on sauvabakteereihin kuuluva *E. coli*, joka eristetään 45-55%:ssa koirien virtsatietulehduksissa. Muita virtsatietulehduksia aiheuttavia sauvabakteereita ovat *Proteus* spp, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Klebsiella* spp ja kokkibakteereista yleisimpiä ovat stafylokokit, streptokokit ja enterokokit. Näistä edellä mainituista kutakin eristetään 2-14%:ssa koirien virtsatietulehduksissa. Narttukoirilla monet uropatogeeniset bakteerilajit, kuten enterokokit, stafylokokit ja streptokokit kuuluvat emättimen normaaliflooraan, mutta myös *E. coli*, proteukset ja pasteurellat ovat yleisiä. Onkin tärkeää arvioida näytteenottotekniikkaa ja bakteerien määrää ennen, kuin diagnosoidaan kliinisesti merkittävä bakteerien määrän nousu virtsassa (Ettinger ym. 2017).

Virtsarakossa ei normaalisti ole bakteereita. Vapaasti lasketun ja katetroimalla otetun virtsanäytteen kontaminaatio bakteereilla ei yleensä ole havaittavissa mikroskooppitutkimuksessa tuoreessa näytteessä ja suuri määrä bakteereja tuoreessa näytteessä viittaakin virtsatieinfektioon. Samaan aikaan nähdään yleensä positiivinen korrelaatio valkosolujen määrässä. Pelkkä bakteerien havaitseminen ilman valkosoluja viittaa kontaminaatioon, bakteerien ylikasvuun seisoneessa näytteessä tai valkosolujen hajoamiseen (Rizzi ym. 2017). Kuitenkin erityisesti eläimillä, joilla on diabetes tai alentunut immuunivaste, voi olla bakteeri-infektio myös vähäisellä määrällä valkosoluja virtsassa. Kasvaimet, virtsakivet, rakenteelliset kehityshäiriöt, munuaissairaudet, diabetes mellitus,

lisämunuaisen kuorikerroksen liikatoiminta, inkontinenssi ja glukokortikoidien pitkäaikaiskäyttö altistavat virtsaelimistön bakteeri-infektioille (Ettinger ym. 2017, Rizzi ym. 2017).

Pyelonefriitillä tarkoitetaan munuaisaltaan ja munuaiskudoksen tulehdusta. Tyypillisesti aiheuttajana toimivat alemmista virtsateistä nousevat bakteerit, mutta taudinaiheuttajat voivat levitä munuasiin myös verenkierron välityksellä ja bakteerien lisäksi myös esimerkiksi sienet ja suuri munuaismato voivat aiheuttaa pyelonefriittiä. Hoitamattomana pyelonefriitti johtaa munuaisvaurioon. Virtsanäytteessä voidaan havaita verta, valkosoluja ja taudinaiheuttajia. Varsinkin vain toisen munuaisen ollessa tulehtunut voivat oireet olla hyvin lievät ja bakteerien ja valkosolujen erityys voi olla myös jaksottaista (Ettinger ym. 2017).

2.7.2.1 *Leptospira* spp.

Leptospiroosi on *Leptospira* spp. -bakteerien aiheuttama systeemisairaus, joka aiheuttaa mm. munuaisten laajenemista ja akuuttia uremiaa koirilla. Sairaus voi esiintyä perakuuttina, subakuuttina tai kroonisena muotona. Suurin osa perakuuttiin muotoon sairastuneista kuolee sepsiksen ja hyytymisjärjestelmän häiriöiden aiheuttamiin komplikaatioihin, kun taas subakuutissa muodossa koirilla esiintyy munuaisten laajenemista, akuuttia uremiaa, hepatiittia ja keltaisuutta. Bakteeri voi kuitenkin aiheuttaa infektioita muuallakin elimistössä, kuten keuhkoissa, pernassa, sydämessä ja luustossa (Ettinger ym. 2017). *Leptospira*-bakteerit ovat niin pieniä, ettei niitä voi nähdä virtsanäytteessä tavallisella valomikroskoopilla (Elliot ym. 2007, Ettinger ym. 2017). Varma diagnoosi saadaan, mikäli virtsanäytteen viljelyssä havaitaan leptospiroja, mutta niiden viljely on hankalaa ja voi vaatia jopa 6 kk viljelyajan (Ettinger ym. 2017).

2.7.3 *Leishmania infantum* (chagasi)

Leishmania infantum on alkueläinparasiitti, joka leviää hietasääskien, puremahaavojen ja siemennesteen välityksellä. Loista esiintyy Välimeren alueella, Aasiassa, Afrikassa ja Väli- ja Etelä-Amerikassa. Nisäkässoluissa ne esiintyvät solunsisäisenä muotona, amastigootteina. Hietasääskissä loinen esiintyy puolestaan solunulkoisena muotona, promastigoottina. Promastigootti on kooltaan

15-30 mikrometriä pitkä, muodoltaan pitkulainen ja sillä on liikkumisen mahdollistava flagella. Amastigootti on pyöreähkö ja halkaisijaltaan 2-6 mikrometriä (Saari ym. 2016).

Koiran immuunijärjestelmällä on tärkeä rooli *L. infantum* aiheuttaman sairauden ilmenemisessä. Tartunta voi olla vuosia oireeton. Tyypillisin muoto on ihomuoto, jossa koiralla esiintyy erilaisia iho-oireita. Viskeraalisessa muodossa koiralla voi olla kuumetta, suurentuneita imusolmukkeita, anoreksiaa, laihtumista, väsymystä, maksan ja pernan suurentumista ja munuaisten vajaatoimintaoireita. Ennuste on varauksellinen ja hoitamattomana se johtaa yleensä kuolemaan (Saari ym. 2016). Monessa tapauksessa koira menehtyy akuuttiin munuaisvaurioon ilman muita leishmanioosin oireita (Soares ym. 2005).

Mendonçan ym. (2015) tutkimuksessa 43 koirasta 29:llä todettiin *L. infantum* positiivisuus luuydinnäytteessä ja virtsan sedimentissä positiivinen tulos todettiin neljällä. Tutkimuksen mukaan virtsanäytteessä havaittiin promastigootteja. Myös Riera ja Valladares (1996) totesivat virtsanäytteen perusteella kaksi koiraa NNN Medium -menetelmällä *Leishmania*-positiiviseksi. Ihmisillä on löydetty elinkelpoisia *Leishmania* ssp. amastigootteja virtsanäytteestä ja amastigootit olivat usein irrallaan isäntäsoluista. Amastigoottien erottaminen virtsan debriksestä, bakteereista tai hiivoista voi olla vaikeaa, sillä ne ovat hyvin samankokoisia (Mebrahtu ym. 1993).

2.7.4 Kiteet

Virtsakiteitä muodostuu virtsaan, kun siihen liuenneiden mineraalien tai muiden kiteytymistä aiheuttavien tekijöiden saturaatiokynnys virtsassa ylittyy (Elliot ym. 2017). Monet patologiset ja fysiologiset syyt voivat aiheuttaa virtsakiteiden esiintymistä virtsassa. Kiteiden syntymiseen vaikuttavat monet tekijät kuten virtsan pH, virtsan ominaispaino, virtsan seisotus näytteenoton jälkeen ja säilytysolosuhteet kuten lämpötila. Joitain kidetyyppejä, kuten struviitti- ja kalsiumoksalaattidihydraattikiteitä, voi esiintyä terveinkin eläimen virtsassa (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Virtsakiteitä voidaan pitää mikroskooppisen pieninä virtsakivinä. Kuitenkaan virtsakiteiden muodostuminen ei merkitse makroskooppisten kivien muodostumista. Virtsakivissä on usein yksi

päämineraali, mutta usein niissä on lisäksi muita mineraaleja. Virtsakivet muodostuvat niduksesta, eli ytimeä, jonka ympärille mineraali alkaa keräytyä (Elliot ym. 2007). Virtsakiteet voivat aiheuttaa virtsatietukoksen, joka varsinkin tilanteen pitkittyessä voi johtaa akuuttiin munuaisvaurioon munuaiseen kohdistuvan paineen takia (Ettinger ym. 2017).

2.7.4.1 Struviittikide

Struviittikiteet ovat yleisin löydetty kidetyyppi koirien ja kissojen virtsanäytteissä ja niitä löydetään myös terveiden eläinten virtsasta. Struviittivirtsakiteillä ei tiedetä olevan suora yhteyttä munuaisvaurioon (Rizzi ym. 2017).

2.7.4.2 Kalsiumoksalaattikide

Kalsiumoksalaattikiteet jaetaan kalsiumoksalaattimonohydraatti- ja kalsiumoksalaattidihydraattikiteisiin. Terveellä eläimellä voi olla muutamia kalsiumoksalaattikiteitä virtsassa. Oksalaatteja sisältävä ruokavalio lisää niiden muodostumista virtsassa. Muita syitä kalsiumoksalaattikiteiden muodostumiselle ovat mm. hyperkalsemia, eli veren kohonnut kalsiumpitoisuus, virtsan happamuus, natriumpitoinen ruoka ja kalsiumin erittymistä virtsaan lisäävät lääkeaineet kuten furosemidi ja glukokortikoidit (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017).

Kalsiumoksalaattimonohydraattikiteet ovat kooltaan vaihtelevia. Ne voivat olla läpinäkyviä ja muodoltaan pitkiä, litteitä ja päistään kapenevia tai ne voivat olla lyhyempiä, pyöreämpiä ja muistuttaa muodoltaan hampun siementä, tynnyriä tai käsipainoa. Jos koiran tai kissan virtsanäytteessä nähdään paljon kalsiumoksalaattimonohydraattikiteitä, tulee epäillä etyleeniglykolimyrkytystä. Harvinaisena löydöksenä myös terveillä eläimillä voidaan virtsassa nähdä kalsiumoksalaattimonohydraattikiteitä varsinkin, jos eläin on syönyt oksalaattipitoista ruokaa. Kalsiumoksalaattimonohydraattikiteet voivat olla muodostamassa myös kalsiumoksalaattivirtsakiviä (Rizzi ym. 2017).

Kalsiumoksalaattidihydraattikiteet ovat värittömiä ja muodoltaan neliön tai suorakulmion mallisia oktaedreja, joissa on ristikuvio. Niiden koko vaihtelee ja joskus ne voivat olla myös kuution

muotoisia. Runsas määrä kalsiumoksalaattidihydraattikiteitä koirien ja kissojen virtsassa voi kertoa etyleeniglykolimyrkytyksestä, mutta kuitenkin niiden esiintyminen virtsassa ei ole etyleeniglykolimyrkytykselle patognomonista, ja eläimellä voi olla etyleeniglykolimyrkytys myös ilman kalsiumoksalaattidihydraattikiteiden esiintymistä virtsassa (Rizzi ym. 2017). Näytteen pitkä säilytysaika lisää kalsiumoksalaattikiteiden muodostumista (Elliot ym. 2007). Kalsiumoksalaattimonohydraattikiteet voivat myös olla osallisina kalsiumoksalaattivirtsakivien muodostumisessa (Rizzi ym. 2017).

Etyleeniglykoli hapettuu maksassa glykoaldehydiksi, joka edelleen hapettuu glykolihapoksi ja lopulta oksaalihapoksi. Oksaalihappo sitoo verenkierrosta vapaata kalsiumia, mikä johtaa kalsiumoksalaattikiteiden muodostumiseen virtsassa, munuaistubuluksissa ja muualla elimistössä. Glykolihappo on myös suoraan toksinen munuaistubulusten endoteelisoluille. Kalsiumoksalaattikiteitä, yleisimmin kalsiumoksalaattimonohydraattikiteitä, alkaa muodostua n. 3-6 h etyleeniglykolin nauttimisen jälkeen (Davy-Moyle ja Londoño 2019).

2.7.4.3 Kystiinikide

Kystiinikiteet ovat värittömiä, litteitä ja kuusikulmion muotoisia ja ne voivat muistuttaa struviitti- tai virtsahappokiteitä (Rizzi ym. 2017). Terveillä eläimillä ei tavata kystiinivirtsakiteitä, vaan niiden esiintyminen virtsassa viittaa perinnölliseen häiriöön joidenkin aminohappojen, kuten ornitiinin, arginiinin, kystiinin ja lysiinin takaisinimeytymisessä munuaisten proksimaalisissa tubuluksissa, mikä voi johtaa virtsakiteiden ja -kivien muodostumiseen (Ettinger ym. 2017, Rizzi ym. 2017). Myös Fanconin syndroomassa voi esiintyä häiriöitä kystiinin takaisinimeytymisessä (Ettinger ym. 2017). Kystiini on vähemmän liukoista happamassa virtsassa, joten hapan virtsa altistaa kiteiden ja kivien muodostumiselle (Elliot ym. 2007, Rizzi ym. 2017). Sairaus ei kuitenkaan johda aminohappojen vajaukseen, ellei ruuan proteiinimäärää ole voimakkaasti rajoitettu (Vaden ym. 2009).

2.7.1.4 Ksantiini

Ksantiini on puurinimetabolian lopputuote, joka muutetaan virtsahapoksi kanstiinioksidaasientsyyminen toimesta (Vaden ym. 2009, Ettinger ym. 2017). Ksantiinikiteet ovat usein ruskeita tai keltaruskeita ja niiden koko vaihtelee. Niitä ei voi erottaa luotettavasti uraattikiteistä tai amorfisesta kidesakasta tavallisella valomikroskoopilla (Rizzi ym. 2017). Ksantiinikiteitä voi muodostua virtsaan leishmanioosin tukihoitona käytettävän allopurinolilääkityksen seurauksena koirilla, sillä allopurinoli estää ksantiinioksidaasientsyymin toimintaa (Ettinger ym. 2017).

2.7.5 Lieriöt

Virtsassa voidaan havaita useita erilaisia lieriötyypppejä. Kaikki lieriöttyypit ovat muodoltaan sylinterimäisiä ja niiden ydin muodostuu Tamm-Horsfallin mukoproteiinista. Tamm-Horsfallin mukoproteiinia muodostuu ja sitä eritetään yksinomaan munuaistubulusten Henlen lingon nousevassa osassa, distaalisissa tubuluksissa ja kokoojaputkissa (El-Achkar ym. 2008, Rizzi ym. 2017). Sen biologista merkitystä ei vielä tunneta täysin, mutta se on yhdistetty munuaisten happoemästäsapainon säätelyyn ja munuaisten synnynnäiseen immunitettiin. Hiirikokeissa sillä on osoitettu olevan suojaava rooli virtsatieinfektioita ja virtsakivien muodostumista vastaan (El-Achar ym. 2008, Rampoldi ym. 2011). Lieriötä löytää virtsanäytteestä helpoiten peitinlasin reunoilta (Elliot ym. 2007).

Virtsan virtauksen väheneminen, matala pH, korkea ominaispaine ja proteiinien lisääntyminen virtsassa ovat tekijöitä, jotka lisäävät mukoproteiinin saostumista ja lieriöiden muodostumista (Rizzi ym. 2017, Chawla ym. 2008). Eri lieriöttyyppien muodostumiselle altistavia tekijöitä on kuvattu kunkin lieriöttyypin kohdalla. Lieriöiden koko on riippuvainen sen munuaistiehyen osan leveydestä, jossa ne ovat muodostuneet: leveät lieriöt muodostuvat kokoojatiehyissä tai muuten laajemmissa osissa tiehyitä ja kapeat lieriöt muodostuvat Henlen lingossa tai kapeammissa tiehyiden osissa. Lisääntynyt lieriöiden muodostuminen voi tapahtua minkä tahansa munuaisten osan (munuaiskerästen, munuaistubulusten, interstitiumin) sairauden seurauksena (Rizzi ym. 2017).

Erityisesti lieriöiden muodostumista on havaittu niiden akuuttien munuaisvaurioiden yhteydessä, jossa kudostuho on kohdistunut munuaistubuluksiin (akuutti munuaistubulusten nekroosi). Lieriöiden lukumäärän virtsanäytteessä on ihmisillä todettu korreloivan munuaissairauden vakavuusasteen kanssa, mutta niiden puuttuminen virtsanäytteestä ei poissulje munuaissairautta (Chawla ym. 2008). Lieriöt hajoavat herkästi erityisesti emäksisessä virtsassa (Elliot ym. 2007).

2.7.5.1 Hyaliinilieriö

Värjäämättömässä virtsanäytteessä hyaliinilieriöt ovat värittömiä ja niiden toinen pää on yleensä tylppä ja kiertynyt ja toinen pää kaventuu häntämäiseksi. Niillä on matala taitekerroin, jonka vuoksi ne ovat lähes läpinäkyviä ja niitä voi olla vaikea (Rizzi ym. 2017).

Hyaliinilieriö koostuu Tamm-Horsfallin mukoproteiinista, eikä siinä ole soluja tai muita pyöreitä elementtejä mukana. Hyaliinilieriöihin voi tarttua debristä virtsanäytteestä, minkä vuoksi voi ne voidaan virheellisesti tunnistaa jyväslieriöiksi. Jyväslieriöissä materiaali on tasaisesti jakautunutta, kun taas hyaliinilieriöiden pinnalla oleva debris on epätasaisesti jakautunut. Väkevässä virtsassa koirilla pidetään normaalina alle kahden hyaliinilieriön esiintymistä näkökenttää (lpf) kohti. Suurempien määrien esiintyminen voi johtua sekä patologisista että fysiologisista syistä. Fysiologisia syitä hyaliinilieriöiden esiintymiselle ovat esim. kuume, raskas liikunta ja diureetit ja patologisia syitä munuaiskerästen sairaus, jossa proteiineja menetetään virtsaan (Rizzi ym. 2017).

2.7.5.2 Jyväslieriö

Jyväslieriöt sisältävät eri kokoisia ja muotoisia, hajonneista munuaistubulussoluista koostuvia kappaleita, jyväsiä. Jyväset ovat läpinäkymättömiä ja niiden väri vaihtelee keltaisesta mustaan ja harmaaseen riippuen niiden koosta ja tiheydestä. Jyväslieriöt ovat hauraita ja usein niiden päät ovat rikkonaiset (Rizzi ym. 2017).

Jyväslieriöt ovat yleisin koirien virtsassa tavattava lieriötyyppi. Pieniä määriä voidaan nähdä myös terveillä eläimillä. Enemmän kuin yhtä jyväslieriötä näkökenttää (lpf) kohti pidetään

epänormaalina. Jyväislieriöiden ilmestyminen virtsaan viittaa akuuttiin tai äskettäin tapahtuneeseen munuaisvaurioon. Jyväislieriöitä voidaan tavata myös munaiskerästen sairaudessa, jossa virtsaan menetetyt proteiinit kerääntyvät mukoproteiiniin muodostaen jyväisen ulkonäön. Ikääntyneet ja degeneroituneet solulieriöt voivat muistuttaa jyväislieriöitä, mutta ovat huomattavasti harvinaisempia (Rizzi ym. 2017).

Rasvalieriöt ovat jyväislieriöitä, joissa on vaihtelevan kokoisia rasvapisaroita, joiden väri vaihtelee kirkkaasta keltaiseen. Rasvalieriöitä nähdään yleisimmin kissoilla ja diabeetikkokoirilla. Rasvalieriöiden esiintymisen diagnostinen merkitys on muuten sama kuin muillakin jyväislieriöillä (Rizzi ym. 2017).

2.7.5.3 Vahaliieriö

Vahaliieriöillä on usein tylpät tai murtuneet päät ja myös niiden varressa voi olla halkeamia. Ne ovat pinnaltaan tasaisia ja niiden väri voi vaihdella värittömästä vaalean keltaiseen ja harmaaseen. Vahaliieriöt erottuvat paremmin värjäämättömästä näytteestä kuin hyaliinilieriöt, sillä ne ovat paksumpia ja tiheämpiä kuin hyaliinilieriöt, joten myös niiden taitekerroin on suurempi. Vahaliieriöt ovat muita lieriöitä kestävämpiä (Rizzi ym. 2017).

Vahaliieriöt ovat kissoilla ja koirilla harvinaisia. Niitä voidaan nähdä akuutin munuaisvaurion jälkeen, kun oliguriasta siirrytään diureesivaiheeseen tai kroonisen aktiivisen munuaisvaurion myöhemmissä vaiheissa. Niitä pidetään pitkälle degeneroituneina jyväislieriöinä ja niiden ilmenemistä virtsassa pidetään indikaationa kauan aiemmin tapahtuneelle munuaisvauriolle. Vahalieriöiden muodostuminen vaatii pitkittynyttä virtsan virtauksen heikentymistä. Leveiden vahalieriöiden muodostuminen kokoojatiehyissä, joissa normaalisti virtsan virtsaus on nopeaa, indikoi siis vakavaa munuaisvauriota (Rizzi ym. 2017).

2.7.5.4 Solulieriö

Solulieriöt koostuvat Tamm-Horsfallin mukoproteiinista ja siihen liittyneistä soluista. Solulieriöt jaotellaan pinnalla olevien solujen mukaan ryhmiin epiteelisolulieriöihin, valkosolulieriöihin ja punasolulieriöihin. Solulieriö voi koostua myös useasta eri solutyypistä (Rizzi ym. 2017).

Epiteelisolulieriöihin on kerääntyneenä munuaistubulusten epiteelisoluja. Epiteelisolut ovat valkosoluja suurempia ja niissä on suuri pyöreä tuma. Valkosolulieriöt koostuvat useimmiten neutrofiileistä ja ne on yleensä helppo tunnistaa jaokkeisesta tumasta. Valkosolut voivat joskus kerääntyä kasoiksi virtsanäytteessä, mitä ei pidä sekoittaa valkosolulieriöihin. Punasolulieriöissä nähdään oranssin tai keltaisen värisiä punasoluja lieriön pinnalla. Punasolut irtoavat lieriöistä herkästi, minkä vuoksi punasolulieriöitä voi nähdä vain tuoreessa virtsanäytteessä. Solulieriöt voivat varsinkin ikääntyessään ja degeneroitua muistuttaa jyväslieriöitä ja punasolulieriöt voivat muistuttaa myös hemoglobiinilieriöitä. Lieriöt voivat alkaa degeneroitua, jos virtsanäytettä säilytetään liian pitkään ennen tutkimista (Rizzi ym. 2017).

Solulieriöitä ei normaalisti nähdä koirien tai kissojen virtsanäytteissä ja munuaissairauksien yhteydessäkin harvoin. Solulieriöitä nähdään harvinaisena löydöksenä akuutissa munuaisvauriossa, mutta silloinkin tyypillisin lieriötyyppi on jyväsolut. Tyypillisin solulieriötyyppi on epiteelisolulieriö, puna- ja valkosolulieriöitä nähdään erittäin harvoin koirien virtsanäytteissä. Epiteelisolulieriöt indikoivat aktiivisesta munuaistubulusten vauriosta ja kuoliosta ja niiden esiintyminen kielii vakavasta munuaissairaudesta. Syitä epiteelisolulieriöiden muodostumiselle ovat mm. munuaistoksiinit, infarktit, iskemia ja akuutti nefriitti. Valkosolulieriöitä syntyy munuaistulehduksissa. Niitä voidaan nähdä akuutissa pyelonefriitissä, mutta myös interstitiellissä nefriitissä. Punasolulieriöiden esiintyminen koirien virtsassa on aina patologista ja indikoi munaisten sisäisestä verenvuodosta esimerkiksi trauman tai hemorraagisen nefriitin/glomerulonefriitin yhteydessä (Rizzi ym. 2017).

2.7.5.5 Hemoglobiinilieriö

Hemoglobiinilieriöt ovat keltaisen tai kullanvärisiä lieriöitä, joissa on jyväinen ulkonäkö. Hemoglobiinilieriöitä tavataan useimmiten intravaskulaarisen hemolyysin yhteydessä, mutta harvinaisissa tapauksissa myös munuaisten verenvuodon yhteydessä (Rizzi ym. 2017).

2.7.5.6 Amorfinen lieriö

Amorfisissa eli sekamuotoisissa lieriöissä on eri lieriötyyppien komponentteja. Amorfisten lieriöiden diagnostinen merkitys on sama kuin sen yksittäisten komponenttien (Rizzi ym. 2017).

3 AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimukseen osallistui 15 koiraa, joita hoidettiin Yliopistollisessa eläinsairaalassa kyynpureman tai tulehduskipulääkemyrkytyksen takia vuonna 2018. Koirista kuusi oli uroksia ja yhdeksän narttuja ja niiden ikä vaihteli 7kk ja 10 vuoden välillä (keskiarvo 4,4, mediaani 3,5 vuotta). Koirista kolme oli mäyräkoiria, kaksi labradorinnoutajia, yksi rottweiler, yksi valkoinen paimenkoira, yksi parsonrusselinterrieri, yksi cane corso, yksi dalmatialainen, yksi skotlanninterrieri ja neljä sekarotuisia, joiden paino vaihteli 13 ja 33 kg välillä. Koirista 12 hoidettiin kyynpureman ja kolmea koiraa tulehduskipulääkemyrkytyksen takia. Seitsemää koiraa kyy oli purrut pään alueelle, kolmea etujalkaan ja kahta takajalkaan. Kyynpureman ajankohta ennen ensimmäistä näytteenottoa vaihteli 4,5 h ja 22 h välillä, mutta yksi koirista oli lähetepotilas, jota oli purtu 2,5 vrk aiemmin. Neljällä potilaalla purema-ajankohta ei ollut tiedossa. Kaikkiaan 10 kyynpuremakoirista sai kyyn vastamyrkkyä. Tulehduskipulääkemyrkytyspotilaista yksi oli syönyt ibuprofeenia maksimiannoksella 335 mg/kg n. 20 h ennen ensimmäistä näytteenottoa ja kaksi potilaista oli syönyt karprofeeniä maksimiannoksilla 37 mg/kg ja 75 mg/kg n. 20-23 h ennen ensimmäistä näytteenottoa. Tutkimukseen ei otettu mukaan koiria, joilla oli aiemmin todettu munuaisarvojen nousua, lisääntyntä juomista tai virtsaamista tai selittämätöntä laihtumista.

Terveiksi kontrolleiksi valittiin 11 perustervettä koiraa, joiden ikä vaihteli 2 ja 12,5 vuoden välillä (keskiarvo 6,4, mediaani 5,3 vuotta). Terveistä kontrolleista yksi oli snautseri, yksi saksanpaimenkoira, yksi kääpiöpinseri, yksi sveitsinajokoira, yksi lapinporokoira, yksi howavart, yksi cairnterrieri, yksi lyhytkarvainen collie, yksi belgianpaimenkoira malinois, yksi labradorinnoutaja ja yksi karkeakarvainen mäyräkoira.

Koirista otettiin virtsanäyte sairaalaantulopäivänä ja sitä seuraavana päivänä, ja sen jälkeen kontrollivirtsanäytteet otettiin 4 viikkoa (vaihteluväli 26-41 vrk) ja 12 viikkoa (vaihteluväli 86-147 vrk) ensimmäisestä näytteestä. Terveiltä verrokeilta otettiin vastaavat näytteet muuten, mutta toisen päivän näytteitä ei otettu. Virtsanäyte otettiin kystosenteesillä tai vapaasti laskettuna. Näytteestä tutkittiin virtsan liuskatesti (Multistix 10 SG, Siemens), josta kirjattiin ylös proteiini-, veri,

ketoaine-, bilirubiini- ja pH-tulos, mitattiin refraktometrillä ominaispaino, määritettiin UPC-arvo ja tehtiin sakkatutkimus IDEXX SediVue Dx® -laitteella. 10 kyynpuremakoirista sai kyynmyrkyn vastamyrkkyä (Antytoksyna jadu zmij 500 j.a., Biomed).

Ennen tutkimuksen aloitusta tutkimukselle on myönnetty eettinen lausunto, jonka mukaan tutkimusmenetelmät noudattavat eettisiä periaatteita ja tutkimus on eettisesti hyväksyttävä.

4 TULOKSET

Yksikään tutkimukseen osallistuneista koirista ei menehtynyt eikä yhtäkään lopetettu tutkimusaikana.

4.1 Liuskatestitulokset

Yhdelläkään tutkimuksen koirista virtsassa ei havaittu glukoosia tai ketoaineita missään vaiheessa tutkimusta. PH-tulokset vaihtelivat paljon eri koirien sekä saman koiran eri näytteiden välillä ja pH-tulosten vaihteluväli, keskiarvo ja mediaani on esitetty taulukossa 1. Liuskatestin loput tulokset (bilirubiini, proteiinit ja veri) on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 1. Virtsan liuskatestin pH-tulokset. Verrokkiryhmältä ei otettu 2. päivän näytteitä.

	<u>VAIHTELUVÄLI</u>	<u>KESKIARVO</u>	<u>MEDIAANI</u>
<u>Myrkytyskoirat</u>			
1. päivän näyte	6,5-8,5	7,8	8
2. päivän näyte	6,0-8,0	6,9	7
1. kontrollinäyte	6,0-8,0	6,7	6,5
2. kontrollinäyte	6,0-8,5	7,1	7
<u>Verrokkiryhmä</u>			
1. päivän näyte	6,0-8,5	7,1	7,3
1. kontrollinäyte	6,0-8,5	7,1	7
2. kontrollinäyte	6,0-8,0	6,8	6,8

Taulukko 2. Liuskatestin bilirubiini-, proteiini- ja veritulokset myrkytyspotilailla 1-15 ja verokkikoirilla 16-26. Tulosten tulkinta: +/- tarkoittaa rajatapausta ja tulokset 1+ vähän, 2+ kohtalaisesti, 3+ paljon ja 4+ erittäin paljon. 1. = 1. päivän näyte, 2. = 2. päivän näyte, 3. = 1. kontrollinäyte ja 4. = 2. kontrollinäyte. Verrokeilta ei otettu 2. päivän näytettä

Näyte	BILIRUBIINI				PROTEIINIT				VERI			
	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.
koira 1	1+	3+	1+	2+	+/-	+/-		1+				
koira 2			1+	1+					+/-	+/-	3+	
koira 3						+/-	+/-				2+	1+
koira 4					2+		+/-					
koira 5					+/-							
koira 6			2+				1+					
koira 7	2+	2+		1+	3+	3+			3+	3+		1+
koira 8							+/-	1+		2+		
koira 9		3+	1+	1+	1+		1+	1+	3+	3+	+/-	2+
koira 10			1+	1+			1+	1+	3+			
koira 11				1+								
koira 12		2+					1+					
koira 13				1+	+/-	+/-	+/-					
koira 14					+/-							
koira 15			3+		2+	+/-	+/-	1+	4+	+/-	2+	
Verrokkiryhmä												
koira 16							1+		+/-			
koira 17	2+		3+				1+				2+	
koira 18					2+		1+	1+				
koira 19					+/-				1+			
koira 20				2+			1+	+/-			1+	+/-
koira 21	1+			1+			1+		1+			
koira 22				2+				+/-			3+	
koira 23			2+	1+	2+		+/-	1+				
koira 24			+/-	1+	1+		1+	1+			3+	3+
koira 25	2+		1+				+/-	1+			2+	+/-
koira 26	2+				+/-		+/-					

4.2. Sedimenttitutkimuksen tulokset

Struviittivirtsakiteitä havaittiin koiralla nro 1 ensimmäisessä ja viimeisessä näytteessä ja koiralla nro 11 viimeisessä näytteessä. Määrät kaikissa näytteissä olivat 1-5 kidettä/hpf.

Koiralla nro 1 havaittiin viimeisessä näytteessä levyepiteelisoluja 3-5 kpl/hpf ja muita epiteelisoluja 6-10 kpl/hpf. Koiralla nro 4 havaittiin kolmannessa näytteessä levyepiteelisoluja 1-2/hpf ja muita epiteelisoluja 3-5/hpf. Verrokkiryhmässä koiralla nro 23 havaittiin ensimmäisessä kontrollinäytteessä epiteelisoluja (ei levyepiteelisoluja) 3-5/hpf.

Lieriöitä ei havaittu yhdessäkään näytteessä.

Sedimenttitutkimuksen muut tulokset (punasolujen ja valkosolujen määrät sekä bakteerien esiintyminen) on esitetty taulukossa 3 tulosten vertailun helpottamiseksi. Vertailun helpottamiseksi taulukossa on esitetty vain normaalista poikkeavat löydökset.

Taulukko 3. Punasolujen, valkosolujen ja bakteerien esiintyminen sedimenttitutkimuksessa myrkytyspotilailla 1-15 ja verrokkikoirilla 1-26. Hpf = high power field, eli tarkasteltuna 40-kertaisella suurennoksella. K = kokkibakteereita, S = sauvabakteereita. 1. = 1. näyte, 2. = 2. päivän näyte, 3. = 1. kontrollinäyte ja 4. = 2. kontrollinäyte. Verrokkikoirilta ei otettu toisen päivän näytteitä.

Näyte	PUNASOLUT				VALKOSOLUT				BAKTEERIT			
	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	1.	2.	3.	4.
koira 1								19/hpf				
koira 2	9/hpf		>50/hpf	14/hpf					K, S	K		K
koira 3			7/hpf	7/hpf								
koira 4			7/hpf				18/hpf					
koira 5												
koira 6								7/hpf				
koira 7												
koira 8									K			
koira 9			10/hpf	11/hpf							K	
koira 10		27/hpf										
koira 11												
koira 12				10/hpf								
koira 13	23/hpf			9/hpf					K			
koira 14				12/hpf								
koira 15				9/hpf								
Verrokkiryhmä												
koira 16												
koira 17			26/hpf						K			
koira 18												
koira 19	11/hpf											
koira 20												
koira 21	8/hpf		8/hpf									
koira 22												
koira 23			7/hpf	31/hpf	21/hpf		16/hpf					
koira 24			>50/hpf	>50/hpf								
koira 25	23/hpf				>50/hpf		>50/hpf	17/hpf	K		K	K
koira 26												

4.3 Ominaispainotulokset

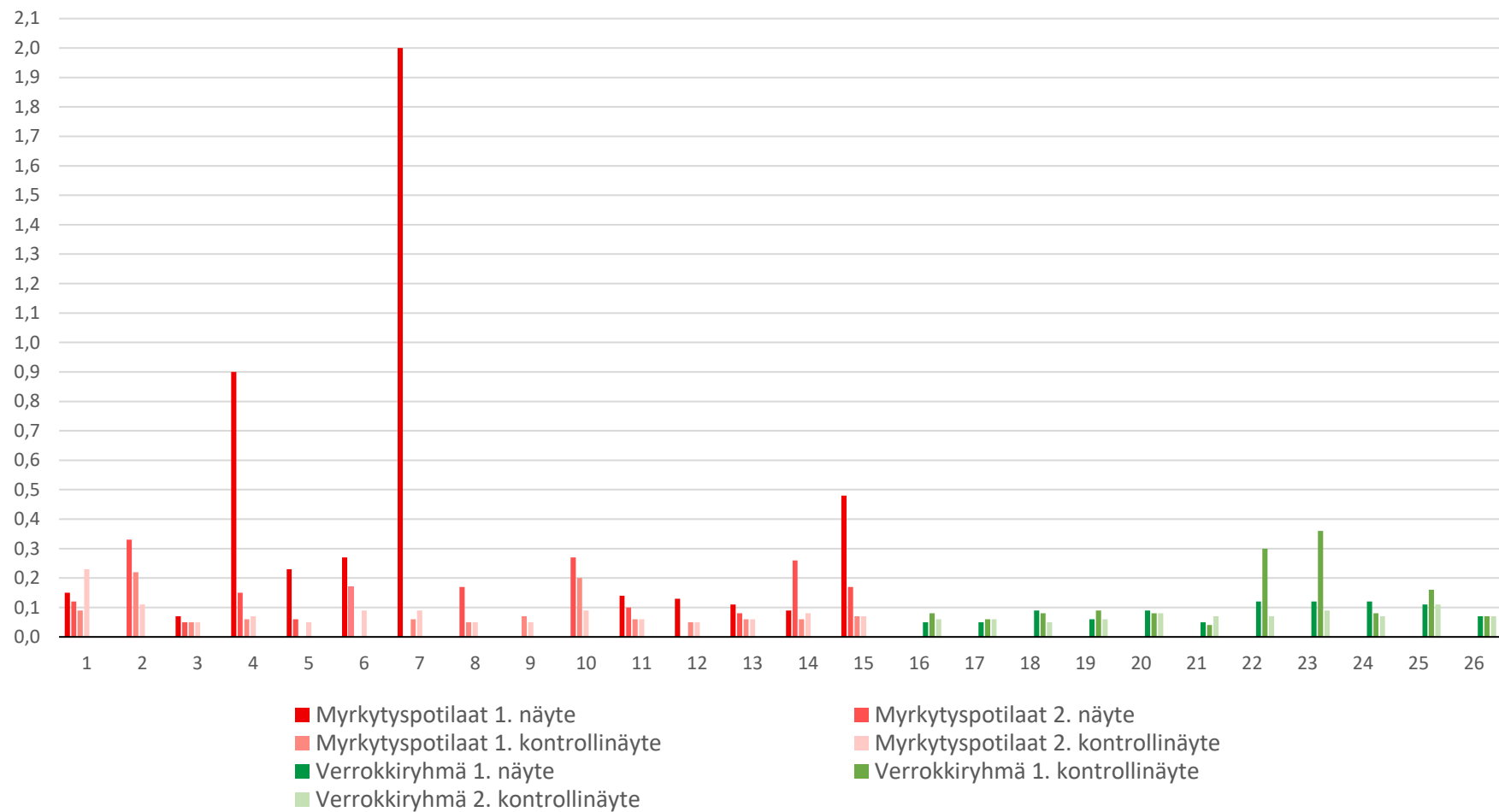
Virtsan ominaispainotulokset vaihtelivat paljon eri koirien sekä saman koiran eri näytteiden välillä. Ominaispainotulosten vaihteluväli, keskiarvo ja mediaani on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Virtsan ominaispainotulokset. Verrokkiryhmältä ei otettu 2. päivän näytteitä.

	<u>VAIHTELUVÄLI</u>	<u>KESKIARVO</u>	<u>MEDIAANI</u>
<u>Myrkytyskoirat</u>			
1. päivän näyte	1,008-1,460	1,025	1,026
2. päivän näyte	1,006-1,042	1,018	1,011
1. kontrollinäyte	1,012-1,048	1,036	1,041
2. kontrollinäyte	1,017-1,060	1,044	1,044
<u>Verrokkiryhmä</u>			
1. päivän näyte	1,007-1,049	1,03	1,04
1. kontrollinäyte	1,001-1,055	1,034	1,036
2. kontrollinäyte	1,008-1,047	1,034	1,033

4.4 Virtsan proteiini/kreatiniini -suhteen tulokset

Virtsan proteiini/kreatiniini -suhde oli myrkytyspotilailla korkeimmillaan 1. ja 2. päivän näytteissä ja laski normaaliksi myöhempiin näytteisiin yhtä koira lukuun ottamatta (koira nro 1), jolla tulos nousi yli normaalirajan viimeisessä näytteessä. Myös kahdella verrokkikoiralla (22 ja 23) oli 1. kontrollinäytteessä normaalia korkeammat tulokset. Tarkemmat tulokset on esitetty kuvassa 1.



Kuva 1. UPC-tulokset. Tulosten tulkinta: <0,2 = normaali, 0,2-0,5 = rajatapaus ja > 0,5 = proteinuria. Puuttuvat tulokset puuttuvat tutkimusmateriaalista. Verrokkikoirilta ei otettu 2. päivän näytteitä.

5. POHDINTA

5.1. Virtsan liuskatesti ja sedimenttitutkimus

Virtsan pH vaihteli tutkimuksen koirilla paljon. Koirien ruokavalio on voinut vaikuttaa, mutta korkeimpia pH-arvoja havaittiin erityisesti myrkytyspotilaiden ensimmäisissä kahdessa virtsanäytteessä, jolloin koirat olivat saaneet nestehoitoa. Akuutissa munuaisvauriossa yksi mahdollinen seuraus voi olla happoemästasapainon häiriintyminen, mutta myös nestehoito laktaattia sisältävällä infuusionesteellä (esim. Ringer Lactat Animal Care) voi nostaa elimistön pH:ta hieman, mikä on voinut olla nostamassa myös virtsan pH:ta näillä potilailla. Virtsan liuskatestin antama pH-tulos on kuitenkin vain suuntaa antava ja se voi poiketa merkittävästikin todellisesta lukemasta (Johnson ym. 2007), joten tarkan arvon määrittäminen vaatisi pH-mittarin.

Ihmisillä tiedetään systeemisen verenvuodon ja veren hyytymishäiriöiden olevan harvinaisia seurauksia kyynpuremissa (Reading 1996). Bilirubiinia havaittiin liuskatestillä virtsassa eniten ensimmäisen ja toisen päivän näytteissä (2+ - 3+), jolloin myös liuskatestin veritulokset ja UPC-arvot olivat korkeimmillaan. Ibuprofeenimyrkytyksen saaneella koiralla nro 4 tai karprofeenimyrkytyksen saaneella koiralla nro 11 ei havaittu virtsassa bilirubiinia yhdessäkään näytteessä. Koiralla nro 12, joka oli samasta perheestä kuin nro 11, oli virtsassa toisen päivän näytteessä bilirubiinia 2+, mutta kyseinen koira ei todennäköisesti ollut syönyt karprofeeniä lainkaan, ja oli siis terve. Todennäköisesti bilirubiinia on muilla tutkimuksen koirilla vapautunut virtsaan kyynmyrkytys aiheuttaman intravaskulaarisen hemolyysin seurauksena. Bilirubiinin, proteiinien ja veren määrä liuskatestillä eivät aina korreloineet keskenään, kuten koiran nro 1 toisen päivän näytteessä voitiin huomata, vaikka muiden näytteiden kohdalla yhteys oli havaittavissa. Tässä tapauksessa tulosten luvun subjektiivisuudella on voinut olla vaikutusta tuloksiin.

Tutkimuksissa SediVue on osoittautunut sekä herkkyyden että tarkkuuden puolesta luotettavaksi puna- ja valkosolujen tunnistamisessa (Blanco ym. 2019, Hernandez ym. 2019). Kiteiden osalta

herkkyys on todettu kuitenkin heikommaksi ja laite saattaa tunnistaa erityisesti pieniä kalsiumoksalaattikiteitä ja muita kiteitä, virtsan debristä ja tiheästi kasautuneita soluja virheellisesti struviittikiteiksi (Hernandez ym. 2019). Tutkimuksessamme ei havaittu virtsanäytteissä patologista määrää virtsakiteitä tai normaalista poikkeavia virtsakidetyyppejä. Valkosolujen esiintyminen virtsanäytteissä ilman havaittuja bakteereita voisi selittyä kontaminaatiolla vapaasti lasketussa virtsanäytteessä tai esimerkiksi inflammaatiosta tutkimushetkellä, mutta näytteenottotapaa ei kirjattu ylös, joten kontaminaation vaikutusta ei voida arvioida. Virtsanäytteille ei myöskään tehty bakteeriviljelyä, joten mikäli bakteerien määrä on ollut vähäinen, ei niitä välttämättä ole tullut näkyviin sedimenttitutkimuksessa. SediVuen ottamien kuvien manuaalisessa tarkistuksessa koiran nro 2 ensimmäisessä näytteessä olevat sauvabakteerit osoittautuivat todellisuudessa siittiöiksi. Verrokkiryhmässä koiralla nro 25 oli virtsanäytteissä runsaasti kokkibakteereita ja valkosoluja, mikä viittaa virtsatieinfektioon.

Tutkimuksessamme liuskatesti ja SediVuen tekemä sedimenttitutkimus antoivat joidenkin näytteiden kohdalla hyvinkin toisistaan poikkeavia tuloksia veren määrän ja punasolujen osalta. Koiran nro 15 virtsan sedimentissä ensimmäisessä näytteessä ei SediVuen tuloksin mukaan ollut lainkaan punasoluja, kun taas liuskatestissä tulos oli 4+, eli erittäin paljon verta. Myös verrokkiryhmässä havaittiin poikkeavuutta liuskatestin verituloksen ja punasolujen määrässä koiralla nro 24, jolla ensimmäisessä ja viimeisessä kontrollinäytteessä oli sedimentissä punasoluja >50/hpf kun liuskatestin tuloksissa vastaavat tulokset olivat 1+ ja +/- . Liuskatestin tulokset ovat kuitenkin tässä tapauksessa (kun automaattista lukijaa ei ole käytetty) subjektiivisia, toisin kuin SediVuen tulkinta on standardisoitua ja sen punasolujen tunnistamiskyky on osoitettu luotettavaksi. Kyynpuremakoirilla myrkyn aiheuttama hemolyysi on voinut nostaa veren hemoglobiinipitoisuutta, joka puolestaan on voinut nostaa virtsan liuskatestin veritulosta ilman, että sakkatutkimuksessa nähdään punasoluja. Verrokkiryhmässä ei havaittu vastaavaa liuskatestin veritulosten kohoamista ilman sedimentin punasolujen määrän lisääntymistä. Tämänhetkisen tiedon mukaan ei ole tehty tutkimuksia, joissa olisi verrattu SediVue-laitetta ja virtsan liuskatestiä toisiinsa.

Tutkimuksessamme koiralla nro 1 havaittiin viimeisessä kontrollinäytteessä normaalia enemmän sekä levyepiteelisoluja että muita epiteelisoluja virtsanäytteessä. Virtsanäyte on merkitty olleen

likaantunut (vapaasti laskettu näyte), joten löydökset voivat kertoa myös kontaminaatiosta. Myös koiralla nro 4 havaittiin ensimmäisessä kontrollinäytteessä normaalia enemmän epiteelisoluja. Molemmilla koirilla kyseisissä näytteissä on normaalia enemmän myös valkosoluja, mutta ei bakteereita. Löydökset voivat viitata bakteerien puuttuessa inflammaatioon virtsateissä. Kuitenkaan munuaissairautta ei voida näiden virtsanäytetutkimusten perusteella poissulkea ja koiralla nro 4 oli kuitenkin ensimmäisessä näytteessä UPC-tuloksen perusteella selvä proteinuria. Verrokkiryhmässä koiralla nro 23 havaittiin ensimmäisessä kontrollinäytteessä epiteelisoluja, ja myös sillä havaittiin normaalia enemmän valkosoluja ilman bakteerilöydöksiä, mikä voi myös tällä koiralla viitata inflammaatioon. Muuten virtsanäytteissä ei havaittu lieriöitä tai epiteelisoluja patologisia määriä.

Valitettavasti vasta tutkimuksemme jälkeen vuonna 2019 Vasilatiksen ym. kongressiabstractissa SediVuen herkkyys lieriöiden tunnistamisessa oli vain 59 %, vaikka tarkkuus olikin hyvä, 91 %. Myös humaanipuolella on Shardan ym. tutkimuksessa (2014) havaittu, etteivät automaattiset virtsan sedimenttiä tutkivat laitteet aina ole tunnistanee varsinkaan pieniä määriä patologisia lieriöitä: iQ200-laitteen tulokinnan mukaan 76%:lla akuutista munuaisvauriosta kärsivillä potilailla ei ollut virtsassa lieriöitä, kun taas manuaalisessa mikroskopoinnissa lieriöitä havaittiin 72%:ssa, mikä on huomattava ero. Myös UF-100-laitteen kyky tunnistaa lieriöitä oli heikko. Vasilatiksen ym. kongressiabstractissa (2019) kuitenkin SediVuen ottamien kuvien manuaalinen tarkistaminen vähensi sekä väärin negatiivisten että väärin positiivisten virhetulosten määrää lieriöiden havaitsemisessa. Vastaavasti vasta vuonna 2019 julkaistussa Hernandezin ym. tutkimuksessa (2019) SediVuen herkkyys levyepiteelisolujen tunnistamisessa oli heikko, vain 33%, vaikka tarkkuus olikin erinomainen, 99%. Myös muille epiteelisoluille tarkkuus oli hyvä, 87-90%. SediVue ottaa kustakin näytteestä 70 kuvaa, ja mahdollista on, että lieriöitä, epiteelisoluja ja munuaistubulussoluja on jäänyt kuvien ulkopuolelle ja siten löytämättä. Toisaalta SediVuen tutkima virtsamäärä on erittäin pieni, joten lieriöitä ja soluja on voinut siksi jäädä näytteen ulkopuolelle. SediVue ei myöskään värjää näytteitä, mikä parantaisi etenkin solujen erottuvuutta ja tunnistamista. Toisaalta värjääminen voisi vaikeuttaa lieriöiden tunnistamista. Monilla myrkytyskoirilla varsinkin ensimmäisten näytteiden kohdalla virtsan pH oli korkea, mikä on voinut edistää mahdollisten lieriöiden hajoamista.

5.2 Virtsan ominaispaino

Vaikka munuaisten virtsan konsentroimiskyvyn tiedetään heikkenevän jo ennen atsotemian syntymistä (Elliot ym. 2007, Hrovat ym. 2013) ei virtsan ominaispainoa voida pitää herkkänä mittarina akuutissa munuaisvauriossa, sillä munuaisten toimintakyvystä tulee olla menetetty n. 67%, ennen kuin niiden konsentroimiskyky heikkenee (Elliot ym. 2007). Hrovatin ym. tutkimuksessa (2013) ei havaittu merkitsevää eroa virtsan ominaispainossa terveiden ja käärmeenpuremakoirien välillä, eikä selkeää eroa havaittu myöskään meidän tutkimuksessamme kontrollinäytteiden osalta. Tutkimuksessamme ensimmäinen näyte otettiin usein vasta, kun koirat olivat saaneet jopa useita tunteja suonensisäistä nestehoitoa, mikä on varmasti vaikuttanut ominaispainotuloksiin niitä laskevasti. Ominaispainon keskiarvo oli matalin toisen päivän näytteissä, mikä voi johtua nestehoidosta, jota on annettu yön yli sairaalahoitoon jääneille koirille.

5.3 Virtsan proteiini/kreatiniini -suhde

Myrkytyksen saaneilla koirilla oli selvästi korkeammat UPC-tulokset ensimmäisessä näytteessä kuin terveillä verrokeilla, joilla UPC oli kahta yksittäistä näytettä lukuun ottamatta normaali. Kahdella myrkytyspotilaalla (koirat 4 ja 7) oli ensimmäisessä virtsanäytteessä virtsan UPC yli proteinurian (0,5) rajan ja viidellä (koirat 2, 5, 6, 10 ja 15) rajatapaus. Koiralla nro 1 UPC-tulos nousi lievästi viimeiseen näytteeseen, mutta vapaasti lasketun näytteen on kirjattu likaantuneen, joten näytteeseen on voinut päätyä ympäristöperäisiä proteiineja. Kontrollinäytteissä eroa ryhmien välillä ei enää havaittu. Myös Palviaisen ym. tutkimuksessa UPC oli tilastollisesti merkitsevästi korkeampi kyynpuremakoirilla kuin terveillä verrokeilla.

Hemolyysi ja hemoglobiuria, joita käärmeenpuremakoirilla usein tavataan, voivat nostaa virtsan UPC-tuloksia, jolloin renaalisen ja prerenaalisen proteinurian arvioiminen hankaloituu. Korkea virtsan pH voi johtaa lieriöiden ja solujen hajoamiseen, jolloin niiden hajotessa vapautuva proteiini voisi nostaa virtsan proteiinipitoisuutta, vaikka itse lieriöitä tai epiteelisoluja ei nähtäisikään. Renaalisen proteinurian diagnoosi vaatisi kuitenkin vähintään kolme näytettä toisistaan vähintään kahden viikon välein otettuna ja UPC-tuloksen tulisi olla vähintään 0,5 (Lees ym. 2005). Tässä

tutkimuksessa ei siis voitu arvioida sitä, oliko proteinuria myrkytyspotilailla tutkimushetkellä renaalista vai prerenaalista, koska arvot normalisoituivat tutkimuksen aikana. Samaan johtopäätökseen päädyttiin myös Hrovatin ym. tutkimuksessa (2013), jossa 19 käärmepuremakoirasta havaittiin liuskatestillä proteinuriaa 17:llä ja bilirubinuriaa kolmella koiralla, sekä nousu UPC-tuloksissa verrattuna terveisiin kontrolleihin. Tutkimuksessamme UPC-tulokset olivat hieman korkeampia niillä koirilla, joilta näyte oli otettu myöhemmin puremasta, joten mahdollisesti hemoglobinurian syntyminen on niillä voinut vaikuttaa tuloksia nostavasti. Mikroskooppinen hematuria ei nosta UPC-arvoa yli 0,5:n (Vientós-Plotts ym. 2018, Jillings ym. 2019), mutta tässä tutkimuksessa näytteenottomenetelmää tai virtsan väriä ei kirjattu ylös tutkimuspotilailla. Tutkimuksessamme verrokkiryhmässä, jossa näytteenottomenetelmä oli kirjattu ylös, ei havaittu proteinuriaa, vaikka näytteissä oli lisääntynyt määrä punasoluja, mutta toisaalta vasta yli 250 punasolua/hpf voi johtaa vääriin negatiivisiin proteiinituloksiin (Vientós-Plotts ym. 2018).

Myrkytyksestä kärsivät koirat kokevat varmasti stressiä sekä myrkytyksen että sairaalahoidon takia ja UPC-arvon on oletettu nousevan stressin vaikutuksesta (Citron ym. 2020). Tänä vuonna julkaistussa Citronin ym. tutkimuksessa (2020) kuitenkin todettiin, ettei virtsan UPC-arvoissa havaittu merkitsevää eroa sairaalassa otettujen ja kotona otettujen virtsanäytteiden välillä terveillä koirilla. Tutkimuksessa verrattiin myös virtsan kortisoli/kreatiniini -suhdetta kotona ja sairaalassa otetuissa virtsanäytteissä, ja niissä puolestaan havaittiin suhteen olevan kliinisesti merkitsevästi korkeampi sairaalassa otetuissa näytteissä, mikä osoittaa koirien kuitenkin kokeneen stressiä. Duffyn ym. (2015) tutkimuksessa UPC:ssä todettiin nousua sairaalaolosuhteissa jo valmiiksi proteinurisilla koirilla, mutta myöskään tässä tutkimuksessa terveillä koirilla UPC:n ei todettu olevan sairaalassa otetuissa näytteissä korkeampia kuin kotona otetuissa.

Korkeimman UPC-tuloksen saanut koira (nro 7) oli hoidossa viikonloppuna, mutta UPC-mittaukset tehtiin laboratoriossa vain arkisin. Näytteen seisotus on voinut siten vaikuttaa UPC-tulosta nostavasti. Kuitenkin kahdeksan koirista oli hoidossa viikonloppuna, eikä UPC-tuloksissa muiden koirien kohdalla nähty yhtä merkittävää nousua. Kyseinen koira tuli huonon kunnon vuoksi lähetepotilaana jatkohoitoon Yliopistolliseen eläinsairaalaan, eli tulos voi kuitenkin olla ainakin

oikean suuntainen. Toisaalta toiseksi korkeimman UPC-tuloksen saanut koira (nro 5) oli hoidossa arkena.

Suurin osa tutkimuksemme koirista oli saanut kyynpureman pään alueelle, joka on ollut yleisin pureman kohde myös aiemmissa koirien käärmeenpuremia koskevissa tutkimuksissa (Aroch ym. 1999, Lervik ym. 2010). Takajalkaan purruilla koirilla UPC-tulokset olivat normaalit ja etujalkoihin purruilla rajatapauksia, kun taas naamaan pureman saaneilla oli sekä normaaleja, rajatapauksia että selvästi kohonneita UPC-tuloksia. Suoraan ei kuitenkaan pienen potilasmateriaalin takia voida verrata UPC-tulosten ja puremakohdan yhteyttä.

5.4 Mahdollisten muiden tekijöiden vaikutus virtsanäytetuloksiin

Tässä tutkimuksessa koirien iällä, sukupuolella, koolla tai kyynpuremakohdalla ei havaittu yhteyttä virtsanäytetuloksiin

Ibuprofeenin turvallinen annoshaitari koirilla on kapea, ja jo annoksella 8 mg/kg on havaittu ruuansulatuskanavaoireita ja ruuansulatuskanavan haavaumia. Munuaisvaurioita on havaittu annoksella 175-300 mg/kg (Khan ja McLean 2012). Ibuprofeenimyrkytyksestä kärsi koira nro 4, jolla syöty annos ylitti munuaistoksisen rajan. Karprofeenilla vakavia ruuansulatuskanavaoireita on havaittu annoksella 20 mg/kg ja munuaisvaurioita annoksella 48 mg/kg (Mensching ja Volmer 2009). Karprofeeniä syöneet koirat olivat kuitenkin saman perheen koiria, joista annoksella 37 mg/kg syöneellä koiralla (nro 11) oli epämääräisiä oireita (heikkoutta, rytmihäiriöitä) ja toinen koirista (nro 12) oli oireeton. On mahdollista, ettei tämä toinen koira ollut syönyt lainkaan lääkettä. Ruuansulatuskanavaoireet, kuten oksentelu ja ripulointi voisivat johtaa tutkimuksemme myrkytyspotilailla elimistön kuivumiseen ja siten altistaa herkemmin munuaisten verenkierron heikentymisen aiheuttamalle munuaisvaurioille. Lisäksi suorat toksiset vaikutukset näin isoilla annoksilla voisivat olla merkittäviä tekijöitä. Kuitenkaan tässä tutkimuksessa munuaisvaurioita ei todettu ja voi olla, ettei koirille ollut kehittynyt munuaisvauriolle altistavaa hypoperfuusiota.

Vastasyntyneen kyyn myrkyn proteaasipitoisuudet ovat matalammat kuin aikuisella, mistä voi päätellä aikuisen kyyn pureman olevan vaarallisempi kuin poikasen (Nedospasov ja Rodina 1992). Kyy synnyttää poikasensa loppukesästä (Reading 1996), ja tutkimuksemme potilasmateriaali on pääasiassa peräisin ajanjaksolta huhtikuun alku – heinäkuu. Vain yhtä koiraa oli kyy purrut elokuun loppupuolella (koira nro 1), joten korkeintaan yhtä koiraa on voinut purra vastasyntynyt kyy. Osan kyynpuremista tiedetään olevan ns. ”kuivia”, eli kyy ei ruiskuta myrkkyä ollenkaan pureman yhteydessä (Reading 1996). Tutkimuksen koirilla oli kuitenkin kaikilla oireita kyynpuremasta johtuen, mikä poissulkee kuivan pureman mahdollisuuden.

Tutkimuksessamme 9 koiraa 12 kyynpuremapotilaasta sai kyyn vastamyrkkyä, kun taas Lervikin ym. (2010) tutkimuksessa koirat eivät saaneet kyyn vastamyrkkyä. Kyseisessä tutkimuksessa ei kuitenkaan tutkittu virtsanäytteitä, joten meidän tutkimuksemme ei täysin ole siihen täysin verrattavissa. Kummassakaan tutkimuksessa ei kuitenkaan ilmennyt kuolleisuutta, eikä yhtäkään koiraa lopetettu. Meidän tutkimuksessamme vastamyrkkyä saaneiden ja niiden välillä, jotka sitä eivät saaneet, ei havaittu huomattavaa eroa virtsanäytetuloksissa, mutta varsinkin niiden osuus, jotka eivät vastamyrkkyä saaneet oli pieni, joten tulokset eivät ole täysin verrannollisia. Kyynmyrkyn antiseerumin vasta-aineet sitovat kyynmyrkyn entsyymejä itseensä ja sitä suositellaan käytettäväksi vakavasti oireilevilla koirilla ja koirilla, jotka eivät vastaa muuhun annettuun hoitoon (Lervik ym.2010). Kyyn vastamyrkyn tehosta koirilla on kuitenkin vain vähän luotettavaa tutkimustietoa ja tulokset ovat osittain ristiriitaisia keskenään (Hodgson ja Brambilla 2019). Hrovatin ym. (2013) tutkimuksessa suurin osa koirista sai vastamyrkkyä, mutta huomattavien virtsalöydösten perusteella kyseessä on todennäköisesti ollut kyytä myrkyllisempiä käärmelajeja.

6 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä tutkimuksessa ei voitu osoittaa tutkimuksen koirille kehittyneen akuuttia munuaisvauriota tulehduskipulääke- tai kynnmyrkkymyrkytyksen seurauksena. Tämän tutkimuksen tulosten ja aiempien tutkimustulosten perusteella vaikuttaa siltä, ettei kynn myrkky ehkä ole yhtä munuaistoksista, kuin monien muiden käärnelajien myrkky, eikä siksi ehkä osaltaan palvellut tämän tutkimuksen tavoitetta löytää sedimentistä uusia merkkiaineita akuutissa munuaisvauriossa. Aiemmassa Palviaisen ym. tutkimuksessa todettiin huomattavalla osalla kynnpuremakoirista munuaisvaurion merkkejä virtsanäytteen perusteella, mikä voi johtua osittain sekä sen aikaisista hoitokäytännöistä (esim. kortisonin ja kolloidien käytöstä, joiden nykyisin tiedetään altistavan munuaisvauriolle, on ollut silloin yleisempää) että siitä, että Yliopistolliseen eläinsairaalaan lähetetään usein vaativimmat potilastapaukset. Pääkaupunkiseudulle on viime vuosina perustettu useita päivystäviä eläinsairaaloita, joten osa vaikeista myrkytyspotilaista alueella on voinut jakautua niihin. Tutkimuksessamme ei kirjattu ylös puremajälkiä, joten on mahdollista, että osa koirista on saanut pureman vain toisesta hampaasta, jolloin myrkkyyannos on ollut pienempi, ja myrkytyksen seuraukset siten vähäisemmät. Myös vastamyrkkyä on voinut olla munuaisvaurioiden syntymistä vähentävä vaikutus tässä tutkimuksessa.

Koirilla on tutkittu paljon uusia virtsan entsyymimerkkiaineita, jotka ovat osoittautuneet lupaaviksi munuaisvaurion varhaisen vaiheen havaitsemisessa, mutta ne ovat toistaiseksi vasta tutkimuskäytössä. Virtsan liuskatestiin, proteiini/kreatiniini -suhteeseen ja ominaispainoon liittyy useita virhetekijöitä ja niiden tuloksiin vaikuttavat monet muutkin tekijät kuin munuaisvaurio. Erityisesti virtsan sedimentissä mahdollisesti esiintyvät lieriöt ovat erittäin spesifisiä munuaisvauriolle, joten tarvittaisiin yhä jatkotutkimuksia niiden esiintyvyydestä ja merkityksestä akuutissa munuaisvauriossa koirilla.

7 LÄHDELUETTELO

Albasan H, Lulich J, Osborne C, Lekcharoensuk C, Ulrich L, Carpenter K. Effects of storage time and temperature on pH, specific gravity, and crystal formation in urine samples from dogs and cats. JAVMA 2003, 2: 176-179.

Aroch I, Harrus S. Retrospective study of the epidemiological, clinical, haematological and biochemical findings in 109 dogs poisoned by *Vipera xanthina palestinae*. Vet Rec 1999, 144: 532-535.

Bagshaw S, Haase M, Haase-Fielitz A, Bennet M, Devarajan P, Bellomo R. A prospective evaluation of urine microscopy in septic and non-septic acute kidney injury. Nephrol Dial Transpl 2012, 27:582–588.

Blanco T, Heseltine J, Hernandez A, Bilbrough G, DeNicola D, Myrick C, Edwards S, Hammond J, Myers A, Nabity M, Ogeer J. Analysis of bias between the Sedivue Dx[®] and manual microscopy in detecting urine sediment cells. J Vet Intern Med 2019, 33: 2375–2547.

Chawla L, Domm A, Berger A, Shih S, Patel S. Urinary sediment cast scoring index for acute kidney injury: a pilot study. Nephron Clin Pract 2008, 110: c145–c150.

Chen H, Aroch I, Segev G. Acute kidney injury secondary to traumatic rhabdomyolysis in a dog. J Vet Emerg Crit Care 2018, 28: 585–590.

Citron L, Weinstein N, Littman M, Foster J. Urine cortisol-creatinine and protein-creatinine ratios in urine samples from healthy dogs collected at home and in hospital. J Vet Intern Med 2020, 34: 777–782.

Davy-Moyle R, Londoño L. Ethylene Glycol Intoxication. Teoksessa: Drobatz K, Hopper K, Rozanski E, Silverstein D (toim.) Textbook of small animal emergency medicine. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, Yhdysvallat 2019. 846–850.

De Loor J, Daminet S, Smets P, Maddens B, Meyer E. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. J Vet Intern Med 2013, 27: 998–1010.

Duffy M, Specht A, Hill R. Comparison between Urine Protein: Creatinine Ratios of Samples Obtained from Dogs in Home and Hospital Settings. J Vet Intern Med 2015, 29: 1029–1035.

El-Achkar T, Wu X-R, Rauchman M, McCracken R, Kiefer S, Dagher P. Tamm-Horsfall protein protects the kidney from ischemic injury by decreasing inflammation and altering TLR4 expression. Am J Physiol Renal Physiol 2008, 295: F534–F544.

Elliot J, Grauer G, Westropp J. BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology. 3.p. British Small Animal veterinary Association, Gloucester, Iso-Britannia 2007.

Ettinger S, Feldman E, Côté E. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat. 8. p. Elsevier, St. Louis, Missouri, Yhdysvallat 2017.

Forrester S. Diagnostic approach to hematuria in dogs and cats. Vet Clin Small Anim 2004, 34: 849–866.

Hernandez A, Bilbrough G, DeNicola D, Myrick C, Edwards S, Hammond J, Myers A, Heseltine J, Russell K, Giraldi M, Nabity M. Comparison of the performance of the IDEXX SediVue Dx® with manual microscopy for the detection of cells and 2 crystal types in canine and feline urine. J Vet Intern Med 2019, 33: 167–177.

Hodgson L, Brambilla G. In dogs with a European adder bite, does the use of antivenom with supportive treatment compared to supportive treatment alone improve time to recovery? *Veterinary Evidence* 2019, 2 (4). doi: 10.18849/ve.v2i4.114

Hrovat A, Schoeman J, de Laat B, Meyer E, Smets P, Goddard A, Nagel S, Daminet S. Evaluation of snake envenomation-induced renal dysfunction in dogs using early urinary biomarkers of nephrotoxicity. *The Vet J* 2013, 198:239–244.

Jacob F, Polzin D, Osborne C, Neaton J, Kirk C, Allen T, Swanson L. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *JAVMA* 2005, 226: 393–400.

Jillings E, Squires R, Azarpeykan S, Lopez-Villalobos N. Does blood contamination of urine compromise interpretation of the urine protein to creatinine ratio in dogs? *N Z Vet J* 2019, 67: 74–78.

Johnson K, Lulich J, Osborne C. Evaluation of the reproducibility and accuracy of pH-determining devices used to measure urine pH in dogs. *JAVMA* 2007, 230: 364–369.

Kaewthamasorn M, Assarasakorn S, Niwetpathomwat A. Microfilaruria caused by canine dirofilariosis (*Dirofilaria immitis*): an unusual clinical presence. *Comp Clin Pathol* 2008, 17: 61–65.

Keir I, Kellum J. Acute kidney injury in severe sepsis: Pathophysiology, diagnosis, and treatment recommendations. *J Vet Emerg Crit Car* 2015, 25: 200–209.

Khan S, McLean M. Toxicology of frequently encountered nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs and cats. *Vet Clin Small Anim* 2012, 42: 289–306.

Lees G, Brown S, Elliott J, Grauer G, Vaden S. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (small animal). J Vet Intern Med 2005, 19: 377–385.

Legatti S, El Dib R, Legatti E, Botan A, Camargo S, Barretti A, Barretti P, Paes A. Acute kidney injury in cats and dogs: a proportional meta-analysis of case series studies. PLOS ONE 2018, 13: e0190772. doi: 10.1371/journal.pone.0190772.

Lervik J, Lilliehöök I, Frendin J. Clinical and biochemical changes in 53 Swedish dogs bitten by the European adder - *Vipera berus*. Acta Vet Scand 2010, 52: 26.

LeVine D, Zhang D, Harris T, Vaden S. The use of pooled vs serial urine samples to measure urine protein:creatinine ratios. Vet Clin Pathol 2010, 39: 53–56.

Lomas A, Grauer G. The renal effects of NSAIDs in dogs. Anim Hosp Assoc 2015, 51: 197–203.

Mebrahtu Y, Hendricks L, Oster C, Lawyer P, Perkins V, Pamba H, Koech D, Roberts C. *Leishmania donovani* parasites in the nasal secretions, tonsillopharyngeal mucosa, and urine centrifugates of visceral leishmaniasis patients in Kenya. Am J Trop Med Hyg 1993, 48: 530–535.

Mendonça I, Batista J, Alves L. *Leishmania (infantum) chagasi* in canine urinary sediment. Braz J Vet Parasitol 2015, 24: 92–94.

Mensing D, Volmer P. Managing acute carprofen toxicosis in dogs and cats. Vet Med 2009, 104: 325.

Moore P, Hsu R, Liu K. Management of acute kidney injury: core curriculum 2018. Am J Kidney Dis 2018, 72: 136–148.

Nabity M, Boggess M, Kashtan C, Lees G. Day-to-day variation of the urine protein: creatinine ratio in female dogs with stable glomerular proteinuria caused by x-linked hereditary nephropathy. J Vet Intern Med 2007, 21: 425–430.

Nedospasov A, Rodina E. Age changes of *Vipera berus* venom amidolytic activity. Toxicon 1992, 30: 1505–1508.

Norris A, Laing E, Valli V, Withrow S, Macy D, Ogilvie G, Tomlinson J, McCaw D, Pidgeon G, Jacobs R. Canine bladder and urethral tumors: a retrospective study of 115 cases (1980–1985). J Vet Intern Med 1992, 3: 145–153.

Palviainen M, Raekallio M, Vainionpää M, Lahtinen H, Vainio O. Evaluation of renal impairment in dogs after envenomation by the common European adder (*Vipera berus berus*). The Vet J 2013, 198: 723–724.

Perazella M, Coca S, Kanbay M, Brewster U, Parikh C. Diagnostic value of urine microscopy for differential diagnosis of acute kidney injury in hospitalized patients. Clin J Am Soc Nephrol 2008, 3: 1615–1619.

Rampoldi L, Scolari F, Amoroso A, Ghiggeri G, Devuyst O. The rediscovery of uromodulin (Tamm–Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. Kidney Int 2011, 80: 338–347.

Reading C. Incidence, pathology, and treatment of adder (*Vipera berus* L.) bites in man. J Accid Emerg Med 1996, 13: 346–351.

Riera C, Valladares J. Viable *Leishmania infantum* in urine and semen in experimentally infected dogs. Parasitol Today 1996, 12: 242.

Rizzi T, Valenciano A, Bowles M, Cowell R, Tyler R, DeNicola D. Atlas of canine and feline urinalysis. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, Yhdysvallat 2017.

Rossi G, Giori L, Campagnola S, Zatelli A, Zini E, Paltrinieri S. Evaluation of factors that affect analytic variability of urine protein-to-creatinine ratio determination in dogs. *AVJR* 2012, 76: 779–788.

Saari S, Näreaho A, Nikander S. *Elinympäristönä koira – koiran loiset ja loissairaudet*. 1. p. Fennonet, Helsinki, Suomi 2016.

Schinstock C, Semret M, Wagner S, Borland T, Bryant S, Kashani K, Larson T, Lieske J. Urinalysis is more specific and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is more sensitive for early detection of acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant* 2013, 28: 1175–1185.

Sharda N, Bakhtar O, Thajudeen B, Meister E, Szerlip H. Manual urine microscopy versus automated urine analyzer microscopy in patients with acute kidney injury. *Lab Med* 2014, 45: e152–e155.

Shropshire S, Quimby J, Cerda R. Comparison of single, averaged, and pooled urine protein:creatinine ratios in proteinuric dogs undergoing medical treatment. *J Vet Intern Med* 2018, 32: 288–294.

Soares M, Moraes J, Palmeira V, Miyazato L, Moraes F. Renal involvement in visceral leishmaniasis dogs. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2005, 11: 579–593.

Tangeman L, Littman M. Clinicopathologic and atypical features of naturally occurring leptospirosis in dogs: 51 cases (2000–2010). *J Am Vet Med Assoc* 2013, 243: 1316–1322.

Thoen M, Kerl M. Characterization of acute kidney injury in hospitalized dogs and evaluation of a veterinary acute kidney injury staging system. *J Vet Emerg Crit Car* 2011, 21: 648–657.

Vaden S, Levine J, Breitschwerdt B. A retrospective case-control of acute renal failure in 99 dogs. *J Vet Intern Med* 1997 11: 58–64.

Vaden S, Knoll J, Smith F Jr, Tilley L. Blackwell's five-minute veterinary consult: laboratory tests and diagnostic procedures canine and feline. Wiley-Blackwell, Ames, Yhdysvallat, 2009

Vasilatis D, Cowgill L, Yerramilli M, Farace G, Owens S. Comparison of IDEXX SediVue Dx® with manual microscopy for detection of casts in canine urine. American College of Veterinary Internal Medicine Forum, Phoenix, Arizona, Yhdysvallat 2019.

Vientós-Plotts A, Behrend E, Welles E, Chew D, Gaillard P, Busler J, Lee H. Effect of blood contamination on results of dipstick evaluation and urine protein-to-urine creatinine ratio for urine samples from dogs and cats. AJVR 2018, 79: 525–531.